

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ACTION EXCLUSIVE DE L'ARSENIC (STOVARSOLO) SUR LE PALUDISME A *PLASMODIUM VIVAX*

par E. MARCHOUX.

Les hématozoaires de Laveran.

Les fièvres intermittentes, on le sait, sont causées par le développement dans le sang des malades d'un protozoaire parasite qui vit exclusivement dans le globule rouge et qui a été découvert par Laveran en 1880. Ce parasite n'est pas toujours identique à lui-même : il parcourt un cycle évolutif qui en modifie constamment la forme ; suivant la nature de la fièvre il présente des caractères morphologiques et biologiques différents. Trois types sont bien déterminés : L'un, *P. malariae*, évolue en soixante-douze heures et donne naissance à la fièvre quarte. Le deuxième, *P. vivax*, qui cause la fièvre tierce, accomplit en quarante-huit heures son cycle évolutif. Le troisième, *P. falciparum*, qui provoque la fièvre tropicale ou tierce maligne, la plus grave de toutes, présente moins de fixité dans la durée de son évolution qui n'est pas toujours de quarante-huit heures ; les générations se succèdent plus vite, chevauchent les unes sur les autres, donnent des fièvres irrégulières dites rémittentes et provoquent parfois des complications pernicieuses.

De savants malariologues ont voulu voir dans ces trois parasites des variétés d'une même espèce, susceptibles, suivant les circonstances, de se transformer l'une dans l'autre. Ce n'est pas ici le lieu d'exposer les arguments mis en avant par les unicistes et les pluralistes. Il me suffira de dire que si ces derniers sont plus nombreux, les autres comptent parmi eux des partisans convaincus.

Difficulté de la lutte antipaludique.

Le paludisme qui, aujourd'hui, a presque totalement disparu de la France continentale est encore très commun dans l'Europe péninsulaire et en Orient. On y trouve les trois formes de parasites alors que celui de la tierce maligne ne s'est jamais acclimaté en France. Par contre, la Corse et toutes nos colonies subissent annuellement de si rudes atteintes que leur essor économique en est paralysé.

De nombreux médicaments ont été prônés comme des agents curatifs souverains des fièvres palustres, notamment auprès de nombreux paludéens revenus de l'armée d'Orient pendant la guerre. Aucun d'eux ne méritait la confiance que le vendeur cherchait à inspirer.

Jusqu'à ce jour, nous ne connaissons qu'un seul remède spécifique de toutes les fièvres paludéennes, c'est le quinquina et ses alcaloïdes dont l'action ne s'est jamais démentie quand ils ont été employés dans de bonnes conditions. Malheureusement, ce remède a atteint aujourd'hui un prix tel que la prophylaxie devient inabordable pour les budgets essoufflés des colonies qui sont plus riches de paludisme que d'argent. Les territoires plantés en quinquina sont limités. Les bois marchands viennent tous de Java. Partout ailleurs, où l'on s'est efforcé d'acclimater les espèces les plus cotées, on n'a obtenu que des récoltes moins riches en quinine et par conséquent moins rémunératrices. Aussi, les plantations ont-elles été abandonnées.

Si l'on veut lutter contre le paludisme, comme les plus élémentaires devoirs d'humanité le commandent, il convient de chercher un remède qui puisse être substitué à la quinine et être fabriqué en quantité indéfinie.

Arsenic.

A côté du quinquina, l'arsenic a toujours occupé une large place dans la thérapeutique des fièvres intermittentes. Sans remonter jusqu'à l'Antiquité, où ce corps était déjà en usage il nous suffira de rappeler que la liqueur de Fowler, celle de Pearson, celle de Boudin n'avaient d'autre destination que de traiter la fièvre des marais. Sans avoir jamais cessé d'être employé sous diverses formes, l'arsenic a connu des fortunes diverses. Cependant, depuis le commencement de ce siècle, il a retrouvé une faveur croissante, d'abord avec le cacodylate et le méthylarsinate sur lesquels A. Gautier (1) avait fondé un grand espoir. Ces espérances, soutenues tout d'abord par les recherches de Billet (2), ne se réalisèrent pas dans la suite. Laveran (3), Cochez (4), W. G. Ross (5), Legrain (6), Seguin (7), Carnot (8) trouvèrent que ces produits ne pouvaient remplacer la quinine et n'avaient aucune action sur l'évolution de l'hématozoaire.

L'atoxyl, qui agissait si bien dans la maladie du sommeil, attira l'attention d'un certain nombre de savants qui en cherchèrent l'action sur le parasite du paludisme. Koch (9), Georgopoulos (10), Ter Gregoriantz (11), Vassal (12), Gonder et Dapas (13), Ravaut (14), tout en constatant parfois un certain pouvoir antiparasitaire, ne lui reconnaissent pas une valeur très grande dans la majeure partie des cas où il fut employé.

Il n'en fut pas de même des arsénobenzènes qui ont été

1. A. GAUTIER. *Ac. des Sc.*, 10 février et 28 avril 1902. — *Ac. de méd.*, 11, 25 février, 29 août, 30 décembre 1902.

2. A. BILLET. *Congrès intern. de Paris*, 1900.

3. LAVERAN. *Ac. de méd.*, 16 décembre 1902 et 13 janvier 1903. — *Traité du paludisme*. Paris, Masson, 1907.

4. COCHEZ. *Soc. de méd. d'Alger*, 26 juin 1902.

5. W. G. ROSS. *Journal. of trop med.*, 15 décembre 1902.

6. E. LEGRAIN. *Rev. méd. de l'Afrique du Nord*, février 1903.

7. SEGUIN. *Ann. d'Hyg. et de méd. coloniales*, 1903.

8. P. CARNOT. *Paris méd.*, 3 novembre 1917.

9. KOCH. *Deut. med. Woch.*, 1905.

10. GEORGOPOULOS. *Mänch. med. Woch.*, 1918, n° 12.

11. TER GREGORIANZ. *Therap. Monats.*, 23, p. 448.

12. VASSAL. *Philippine Journ. of Science*, 1, février.

13. GONDER et DAPAS. *Wien. med. Woch.*, 1908, n° 23.

14. P. RAVAUT. *Syphilis, paludisme, amibiase*, Paris, 1922, Masson et C^{ie}, p. 121.

appliqués au traitement du paludisme d'abord par Iversen (1) et par Nocht et Werner (2), puis peu après par Ch. Nicolle et E. Conseil (3) avec des résultats divers. Ils furent reconnus assez actifs sur le parasite de la tierce bénigne, un peu moins sur celui de la quarte, beaucoup moins sur celui de la tropicale. Le néo-salvarsan resta cependant dans la thérapeutique du paludisme, employé concurremment avec la quinine et comme adjuvant.

Pendant la guerre, Ravaut remit en honneur le novarsénobenzol qu'il associa au traitement quinique. Paul Carnot reconnaît à ce produit une certaine action sur les parasites du paludisme, mais le considère de plus comme un agent intense de rénovation globulaire et de tonicité générale. Depuis cette époque, il semble resté à la place où Ravaut l'a laissé. Cependant, le D^r Vogt de Marengo le préfère à la quinine chez les malades porteurs de grosse rate. Il trouve que le novarsénobenzol amène plus vite que la quinine une réduction de volume de cet organe.

Le Stovarsol.

Alors qu'Ehrlich, dans la recherche de l'arsénobenzol, abandonna les dérivés aromatiques de l'arsenic pentavalent, en raison des troubles nerveux que provoquaient chez la souris ceux qu'il avait utilisés, notre collègue et ami E. Fourneau (4) reprit l'étude des acides arsiniques. Il prépara notamment à l'état de pureté deux produits : l'acide oxyaminophénylarsinique ou 189 et le dérivé acétylé de cet acide, le 190.

Le premier, instable et devenant de ce fait facilement toxique, fut rapidement abandonné au profit du second qui, sous le nom de stovarsol, connut une heureuse fortune. Levaditi et Navarro-Martin (5) reconnurent les effets remarquables sur le tréponème de cet agent thérapeutique donné par la voie buc-

1. IVERSEN. *Deut. med. Woch.*, 1910, n° 41.

2. NOCHT et WERNER. *Deut. med. Woch.*, 1910, n° 34. — WERNER. *Ibid.*, 1910, 29 septembre, n° 39. WERNER *Archiv f. Sch. u. Trop.-Hyg.*, 1912, 16, Beih. 1.

3. CH. NICOLLE et E. CONSEIL. *Bull. Path. exot.*, 3, 1910, p. 708.

4. E. FOURNEAU. *Ann. Inst. Past.*, 35, septembre 1921. — E. FOURNEAU, A. NAVARRO-MARTIN, M. et M^{me} TRÉFOUEL. *Soc. biol.*, 1922, p. 1197. *Ann. Inst. Past.*, 37, juin 1923.

5. C. LEVADITI et A. NAVARRO-MARTIN. *Acad. Sc.*, 17 mars 1922.

cale et montrèrent avec Fournier et Schwartz (1) le rôle préventif qu'il joue sur l'éclosion des accidents syphilitiques après infection expérimentale ou connue.

Dans des publications antérieures, nous avons fait connaître le pouvoir curatif rapide que possède le stovarsol dans l'amiabiose et certaines Lambliosés (2). Nous avons reconnu qu'il faisait disparaître non seulement ces parasites, mais d'autres moins pathogènes en général, tel que les *Chilomastix* et certains ciliés non déterminés (3). Les *Blastocystis* si communs dans l'intestin et qui prennent un développement considérable dans certaines diarrhées persistantes, ne se rencontrent plus après l'administration de doses même très faibles de ce produit arsenical. Cette action remarquable sur tant de parasites et de protozoaires divers devait naturellement conduire à entreprendre des recherches sur d'autres protistes qui jouent dans la pathologie humaine un rôle plus considérable, les hématozoaires du paludisme.

Au moment où commençaient nos essais, nous avons eu connaissance d'un travail de deux assistants du Professeur Feletti, MM. Valenti et Tomasselli (4) qui ont obtenu d'excellents résultats sur deux malades, l'un atteint de fièvre quarte, l'autre de fièvre tierce. Cette publication ne pouvait que nous encourager à poursuivre nos tentatives.

Paludisme d'inoculation.

Wagner von Jauregg ayant observé que l'inoculation du paludisme aux paralytiques généraux était susceptible d'amener des améliorations et des rémissions prolongées, cette méthode de traitement s'est répandue d'abord en Autriche, puis en Allemagne, en Angleterre, etc. Elle a été introduite en France par Auguste Marie qui est allé chercher en Hollande la souche qu'il fait passer chez les malades de son service.

Sur une affection aussi grave que la paralysie générale, vis-à-

1. L. FOURNIER, C. LEVADITI et NAVARRO-MARTIN et SCHWARTZ. *Acad. Sc.*, 1922.

2. E. MARCHOUX. *Bull. Soc. Path. exot.*, 2 février 1923. — *Ibid.*, 9 mai 1923.

3. MARCHOUX. *Paris méd.*, 22 novembre 1924.

4. VALENTI ET TOMASELLI. *Il Policlinico*, f. 36, 9 septembre 1924.

vis de laquelle on reste jusqu'à ce jour totalement désarmé, il est parfaitement justifié d'employer un mode de traitement qui, d'après des observateurs dignes de foi, a produit des résultats avantageux. L'observation des malades ainsi inoculés a permis du même coup vis-à-vis de l'évolution des parasites des constatations importantes au point de vue de la pluralité des germes.

C'est ainsi qu'on n'a jamais vu se reproduire que l'hématozoaire inoculé; jamais aucune transformation n'a été enregistrée.

Pour le traitement des paralytiques généraux, on se sert ordinairement du *P. vivax* qui ne fait pas courir de grands risques et qui provoque les hautes ascensions thermiques auxquelles sont attribuées les améliorations signalées.

M. Auguste Marie a bien voulu nous ouvrir son service et nous autoriser à y faire quelques recherches.

Premiers résultats sur le paludisme des paralytiques généraux.

Il est de règle, après le dixième accès, d'interrompre la fièvre par administration de quinine. Nous avons recherché avec le concours de M. Cohen (1), assistant de M. Marie, à remplacer la quinine par le stovarsol. Nous avons employé, non pas l'acide acétylaminophénylarsinique, mais le sel de soude qui est soluble à la dose de 4 gramme pour 8 cent. cubes d'eau. L'injection intraveineuse nous a paru tout d'abord préférable à l'administration par la voie gastrique, parce qu'elle est d'application plus facile quand on s'adresse à des sujets atteints de débilité mentale et parce qu'on est plus sûr de la quantité qui a été absorbée.

Sept malades, dont un qui avait rechuté après un traitement quinique, ont reçu 4 gramme de stovarsol sodique dissous dans 10 cent. cubes d'eau distillée, ce qui représente en poids 0 gr. 75 environ d'acide actif. Une seule injection a été faite à chacun d'eux. Chez tous, au bout de vingt-quatre heures, les parasites avaient disparu.

1. E. MARCBOUX et COHEN. *Soc. Biol.*, 24 janvier 1925.

Mode d'action sur les parasites.

La destruction ne se fait pas brusquement, mais elle est progressive. En suivant ce qui se passe, sur des frottis prélevés d'heure en heure, on constate que les hématozoaires pigmentés disparaissent les premiers. Il ne s'en rencontre presque plus déjà après six, huit heures. Les éléments jeunes sont les plus résistants. C'est donc le contraire de ce qui se passe avec la quinine.

Ce n'est pas non plus un processus de fragmentation auquel on assiste. Il se produit tout d'abord une condensation du protoplasma et surtout de la chromatine. Puis le protoplasma perd la faculté de retenir la couleur, se fond et disparaît. Le noyau, encore à ce moment dense, bien coloré, apparemment même plus volumineux que dans un hématozoaire normal, reste seul enveloppé dans une ombre de protoplasma. Il finit par se dissoudre à son tour dans le globule sans que celui-ci soit atteint, car on trouve parfois des hématies chargées de grains de Schüffner et dépourvues de parasites.

Il y avait là un fait gros de conséquences, s'il se vérifiait dans tous les cas de paludisme, c'était la sensibilité remarquable des corps pigmentés et en particulier des gamètes que la quinine atteint plus difficilement. D'autre part, la guérison rapide des malades après une seule injection était de nature à faire naître les plus beaux espoirs pour le succès rapide de la prophylaxie.

Paludisme par inoculation anophélienne.

Il est vrai d'ajouter cependant que la plupart des malariologues, entre autre Mühlens (1), W. Yorke et J. W. S. Macfie (2), estiment que les plasmodes d'inoculation sont moins résistants aux agents médicamenteux que les plasmodes de transmission anophélienne. Cependant, deux paludéennes qui, de l'Afrique

1. P. MÜHLENS. *Archiv f. Schiff. u. Trop-Hyg.*, 24, 1920, p. 172-174.

2. W. YORKE et J. W. S. MACFIE. *Trans. Royal Soc. of Trop. med. a. Hyg.*, 18, nos 1 et 2, 20 mars et 15 mai 1924.

occidentale (Kaédi, Mauritanie) et de l'Afrique équatoriale (Brazzaville), avaient rapporté du paludisme à *P. vivax*, ont reçu chacune une injection intraveineuse de 1 gramme de stovarsol sodique. Les parasites dont elles étaient porteuses se sont montrés aussi sensibles que ceux des paralytiques généraux.

**Une seule injection empêche la rechute
sur deux tiers des malades pendant au moins deux mois.**

Il convient d'ajouter comme conclusion à cette série d'expériences, qu'après deux mois au moins, trois seulement de ces neuf paludéens ont rechuté. C'est là, comme on le voit, un résultat remarquable puisque, si ce qui existe aujourd'hui n'est pas modifié dans l'avenir, une seule injection aurait guéri les deux tiers des malades traités.

Le paludisme algérien.

On comprendra sans peine que des cures aussi surprenantes aient éveillé le désir de vérifier sur le paludisme algérien l'activité du stovarsol.

Qu'il me soit ici permis de remercier les autorités administratives des facilités qu'elles nous ont accordées pour mener à bien cette mission. Grâce à l'obligeance de nos collègues, les frères Sergent, il nous a été facile de rencontrer assez de malades pour faire rapidement les observations nécessaires.

Après quelques recherches d'orientation faites à *Maison Carrée*, localité située dans la banlieue immédiate d'Alger, nous sommes allé nous installer à *Marengo*. Ce chef-lieu de canton, qui compte environ 7.000 habitants, se présente comme une agglomération percée de rues rigoureusement dirigées les unes du nord au sud, les autres de l'est à l'ouest, autour d'une grande place centrale. Le village bâti à l'européenne, et composé de maisons à simple rez-de-chaussée pour la plupart, est tout entouré de misérables gourbis en paille dans lesquels s'entasse une population indigène, pauvre, peu vêtue, mal alimentée. Le nombre des enfants est considérable. Tous sont bien loin de

fréquenter l'école ; cependant, celle-ci compte 650 élèves.

Le paludisme est là très répandu, entretenu par les Indigènes qui sont presque tous porteurs de germes. Sur 64 d'entre eux, nous en avons rencontré 27 qui, à ce moment, avaient en grand nombre des parasites dans le sang : 14 hébergeaient *P. malariae*, 7 *P. vivax*, 6 *P. falciparum*.

De 37 colons examinés, 16 portaient des parasites : 4 de *P. malariae*, 4 de *P. vivax*, 8 de *P. falciparum*.

Parmi les Indigènes, il y avait une majorité d'enfants ; parmi les colons, une majorité d'adultes. Dans l'ensemble, tant à Marengo qu'à Maison-Carrée, nous avons examiné 136 personnes parmi lesquelles 44 avaient des parasites dans le sang, ce qui représentait sensiblement $1/3$. 19 portaient des parasites de quarte, 12 de tierce, 13 de tropicale. Si le pourcentage du paludisme avait été établi par palpation grossière de la rate, pratiquée même sur des sujets debout et difficiles à examiner, il eût été de 60 p. 100.

Résultats positifs sur le *P. vivax*.

Le traitement des porteurs de *P. vivax*, soit par le stovarsol en comprimés donnés par la bouche (3 cas), soit par le stovarsol sodique administré en solution sous la peau (2 cas), dans les muscles (2 cas), dans les veines (3 cas), par la bouche (2 cas), a donné les mêmes résultats : disparition rapide des parasites.

Pour les très jeunes enfants de deux à quatre ans, surtout les jeunes indigènes tous de poids très faible, il a fallu des tâtonnements avant d'arriver à la dose convenable.

Pour un enfant de 15 à 20 kilogrammes, la dose de 0,50 de stovarsol sodique, ou d'un comprimé et demi de stovarsol, doit être employée.

Trois enfants trop petits ont reçu, par la bouche, un comprimé ou 0 gr. 33 de stovarsol sodique en solution, ce qui représente sensiblement la même dose de principe actif.

Pour deux d'entre eux, la dose s'est montrée suffisante, elle a été trop faible pour le troisième.

Résultats négatifs pour *P. malariae* et *P. falciparum*.

11 malades porteurs de *P. malariae* et 12 de *P. falciparum* ont reçu suivant leur âge des doses équivalentes, soit dans les veines, dans les muscles, sous la peau ou encore par la bouche, sans qu'il se produise aucune modification dans le nombre des parasites.

Le *P. malariae* continuait son évolution et se transformait en rosettes, alors même que le malade restait sous l'influence du médicament.

Le *P. falciparum*, soit sous forme de gamètes en croissant, soit sous celle de schizontes annulaires, persistait dans tous les cas.

Un malade porteur à la fois de *P. vivax* et de *P. falciparum* fut débarrassé du premier, mais conserva le deuxième.

Le Tréparsol est moins bien supporté.

Au lieu du dérivé acétylé, nous avons employé sans plus d'avantages le dérivé formylé. Dans un cas même l'administration de 1 gramme de ce dérivé sodé, par injection intraveineuse, a produit un état nauséux qui a persisté pendant vingt-quatre heures.

Le Stovarsol uréthane est facilement toxique.

Quant au stovarsol uréthane, il s'est montré, à la dose de 1 gramme par voie veineuse, si toxique qu'il nous a inspiré des craintes sérieuses pour la malade qui l'avait reçu. Quatre heures après l'injection est survenue une crise nitritoïde avec agitation, violentes douleurs lombaires et épigastriques, vomissements, faiblesse du cœur et refroidissement. Tous ces accidents, suivis et surveillés par le D^r Tardres que nous remercions ici, ont été fort heureusement calmés par une injection d'adrénaline, un grand lavage intestinal et des enveloppements chauds. Il a cependant persisté un léger ictère qui a duré quarante-huit heures.

L'inertie de ce produit vis-à-vis de la tierce maligne est aussi grande que celles des autres arsenicaux.

Rôles curatif et adjuvant du Stovarsol.

Il résulte de ces essais de traitement cette observation très nette de la spécificité d'action du stovarsol sur le *P. vivax* à l'exclusion des deux autres.

Ce produit n'est cependant pas inutile dans le traitement des fièvres quarte et tropicale où, comme tant d'autres arsenicaux, il agit comme adjuvant de la quinine, soit en qualité de reconstituant, soit en activant les propriétés curatives de la quinine. Tous les thérapeutes ont observé les avantages de cette association. A. Gautier (1) avait même insisté en 1917 sur le rôle activant des composés organo-métalliques de l'arsenic. Neuschloss (2) a mis ce pouvoir activant en relief par des expériences précises qui ont d'ailleurs été confirmées dans notre laboratoire par M. A. Cantacuzène. Ces savants ont en effet observé que des Paramécies, et d'autres protozoaires aquicoles habitués à vivre dans des solutions de quinine toxiques, perdaient cette résistance dès qu'on introduisait dans la solution une quantité d'arsenic insuffisante pour troubler l'activité des mêmes protozoaires normaux.

De divers côtés on se préoccupe de chercher un remède synthétique contre le paludisme. Ces observations nous portent à croire qu'un seul n'agira probablement pas, comme la quinine, contre les trois hématozoaires. Trouvera-t-on celui ou ceux qui conviennent aux deux parasites réfractaires au stovarsol dans la série de l'arsenic ou faudra-t-il les chercher dans d'autres séries? Nous serions porté à nous rallier à cette seconde opinion.

Conclusions.

1° A la dose tout à fait inoffensive et assez éloignée de la dose toxique de 1 gramme pour les adultes et de 0 gr. 37 pour les enfants, le stovarsol, quel qu'en soit le mode d'administra-

(1) AR. GAUTIER. *C. R. Acad. Sc.*, **164**, 16 avril 1917. — *Bull. Acad. Méd.*, 24 avril 1917.

(2) NEUSCHLOSS. *Pfeiffer's Archiv*, **176**, 1919, pp. 223-235.

tion, fait rapidement disparaître les parasites de la fièvre tierce bénigne (*P. vivax*) qui fondent comme des morceaux de sucre dans l'eau ;

2° La fonte commence par les formes pigmentées ;

3° Les formes jeunes résistent davantage, mais la destruction est complète en vingt-quatre heures ;

4° Après avoir reçu une seule injection de 0 gr. 75 de principe actif, un tiers seulement des malades ainsi traités a rechuté dans l'espace de deux mois ;

5° Le même remède employé seul reste sans action sur les parasites de la quarte (*P. malarix*) et de la tropicale (*P. falciparum*) ;

6° Comme le *P. vivax* est le seul qui provoque des hypertrophies notables de la rate, le praticien peut reconnaître sans examen microscopique, par la palpation de cet organe, les malades qui sont justiciables du traitement par le stovarsol ;

7° La sensibilité du *P. vivax* à la médication arsenicale et l'indifférence du *P. malarix* et du *P. falciparum* constituent une preuve de plus en faveur de la pluralité des germes du paludisme qui ne doivent point être regardés comme trois variétés de la même espèce, mais comme trois espèces distinctes.

SUR LA PATHOGÉNIE DU CHARBON DIT « INTERNE » OU « SPONTANÉ »

par le Professeur G. SANARELLI,
Directeur de l'Institut d'Hygiène de l'Université de Rome.

(Avec les planches I, II et III.)

I. — Opinions actuelles sur la pathogénie du « charbon interne ».

Depuis plus d'un demi-siècle, l'infection charbonneuse est constamment l'objet des expériences et des recherches les plus variées.

Mais malgré cela, nos notions touchant au processus pathogénique de cette maladie, considérée généralement pour la plus banale de toutes les maladies transmissibles aux animaux de laboratoire, sont en réalité bien loin d'être claires et convaincantes.

Aujourd'hui nous ignorons, dans le charbon, jusqu'à ce qui régit le mécanisme vrai de la mort.

C'est parce qu'on n'a pas réussi jusqu'à présent, malgré les manipulations les plus variées, à obtenir, en partant des cultures charbonneuses, des toxines actives, que beaucoup partagent encore — comme on lit dans un des traités les plus modernes et les plus répandus (1) — l'ancienne théorie de Toussaint, suivant laquelle, dans le charbon, la mort serait provoquée par des embolies bactériennes dans les capillaires.

En ce qui concerne, d'autre part, la pathogénie du charbon dit « interne » ou « spontané », chez les animaux comme chez l'homme, l'opinion des auteurs semble aujourd'hui pleinement concordante depuis les fameuses expériences de Koch et de

(1) MOHR et STAHELIN. *Handbuch der inneren Medizin*, Berlin, J. Springer, 1911, 4, p. 1031.

ses collaborateurs. Nous reparlerons plus loin de ces expériences considérées, dès leur publication, comme complètes et définitives.

En effet, on pense aujourd'hui, contrairement aux vues de Toussaint et à celles de l'école de Pasteur, que le charbon interne ou intestinal est produit par les spores charbonneuses avalées et ensuite germées et développées à leur aise dans le tube digestif.

Le premier à appeler l'attention sur la façon dont le microbe de Davaine, dans le cas de charbon interne ou spontané, pénètre dans l'organisme animal, fut H. Toussaint, de Toulouse.

Après une série de notes préliminaires envoyées à l'Académie des Sciences, Toussaint publiait en 1879 (1) sa belle monographie sur la maladie charbonneuse.

Dans cette œuvre merveilleusement documentée de faits expérimentaux, l'auteur s'était proposé de démontrer que, dans le soi-disant charbon spontané ou interne, les germes pénétraient dans l'organisme à travers des érosions ou des blessures accidentelles de la bouche et du pharynx.

Cette conception était basée avant tout sur l'examen anatomique des bovins ou des ovins morts de charbon spontané et expérimental.

Toussaint avait observé qu'à l'autopsie de ces animaux les ganglions lymphatiques se montraient œdémateux, tuméfiés, hémorragiques et noirâtres seulement au voisinage du point d'inoculation ou d'entrée du virus.

Or, des ganglions ainsi altérés, dans le charbon spontané des bovins et des ovins, se trouvent généralement dans le territoire lymphatique correspondant au cou ou au pharynx du côté droit ou du côté gauche (ganglions sub-linguaux, rétro-pharyngiens, etc.), tandis que tous les autres ganglions apparaissent normaux. Toussaint en conclut logiquement que, dans le charbon spontané ou interne, les animaux devaient s'infecter par la bouche, l'arrière-gorge ou le long du pharynx.

L'année suivante apparut le mémoire classique de Pasteur,

(1) *Recherches expérimentales sur la maladie charbonneuse*, Paris, Asselin et C^{ie}, 1879.

Chamberland et Roux (1), dans lequel, au moyen de nouvelles expériences exécutées sur des cobayes et des moutons, était mise en lumière l'extrême difficulté de transmettre le charbon à ces animaux, en leur administrant simplement des aliments infectés de spores.

C'est seulement en ajoutant à ces aliments infectés des objets piquants (extrémités pointues de carde desséchée et barbes d'épis d'orge taillées en menus fragments) que les auteurs avaient réussi à obtenir une certaine mortalité chez les moutons. Et puisque les lésions rencontrées à l'autopsie étaient apparues identiques à celles que l'on observait sur les animaux morts de charbon dans les étables ou au pâturage, ces auteurs conclurent naturellement comme avait conclu Toussaint, c'est-à-dire que la pénétration du virus charbonneux devait s'effectuer à travers la muqueuse bucco-pharyngienne.

Ainsi ce point du problème étiologique du charbon interne semblait pacifiquement réglé.

Mais l'année d'après, Koch (2) déclarait insoutenable et erronée la doctrine pastorienne. Il affirmait qu'il était impossible de déduire, en s'appuyant sur les altérations des ganglions lymphatiques, la voie précise de pénétration du virus. Il soutenait que, dans la très grande majorité des cas de charbon interne, non seulement chez les animaux, mais aussi chez l'homme, tout parle et dépose au contraire en faveur d'une « infection intestinale ».

Suivant Koch, le virus charbonneux infecterait l'organisme seulement de deux manières : ou bien il pénètre à travers la peau en formant une pustule, ou bien il produit le charbon intestinal. « D'autres voies d'infection, conclut-il, sont si rares qu'on ne peut réussir à en trouver des exemples. » Chez les animaux plus sensibles comme les ovins, les bacilles charbonneux ou bactériidies se multiplient moins dans l'appareil digestif, y produisant aussi des altérations moindres parce qu'ils se diffuseraient précocement dans le sang, donnant lieu à une rapide généralisation septicémique.

(1) Sur l'étiologie du charbon. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1880, 99, p. 86.

(2) Zur Etiologie des Milzbrandes. *Mittheilungen aus dem kais. Gesundheitsamte*, 1881, p. 49.

En quoi consistait ce charbon intestinal expérimental, c'est ce qui fut mieux précisé par le même Koch dans une brochure polémique parue peu après (1). « Il est donc probable — dit-il à la page 27 — que les bactéries charbonneuses périssent dans l'estomac dont le contenu est acide, tandis que les spores le traversent sans inconvénient, se développent dans le contenu alcalin de l'intestin et pénètrent ensuite dans la muqueuse de ce dernier. L'examen microscopique semble indiquer que l'invasion se produit par les follicules lymphatiques et par les plaques de Peyer. »

Mais, malgré la séduisante simplicité de cette nouvelle conception pathogénique, le doute subsistait encore, qu'avant de dépasser la cavité gastrique les spores puissent pénétrer dans le sang à travers quelques imperceptibles lésions de la muqueuse des premières voies digestives. C'est pourquoi Koch, Gaffky et Loeffler (2) publièrent, l'année suivante, un nouveau mémoire qui avait non seulement pour but de mieux préciser certaines particularités sur les manifestations de ce prétendu « charbon naturel », mais aussi celui de critiquer et de combattre les vaccinations charbonneuses.

Voici comment Koch, Gaffky et Loeffler reproduisaient expérimentalement le « charbon naturel » chez les moutons.

Ils introduisaient une quantité de spores du volume d'un pois, dans un cylindre de pomme de terre crue, qui faisait fonction d'enveloppe naturelle. Celui-ci était ensuite poussé à travers l'œsophage des animaux, de façon à rejoindre l'estomac sans infecter les premières voies digestives.

Tous les moutons ainsi traités mouraient de charbon dans l'espace de quarante-huit heures, et les auteurs n'hésitaient pas à affirmer qu'ils étaient morts de « charbon alimentaire ou interne ».

« A peine — disaient-ils — les spores ont-elles dépassé la sphère du suc gastrique acide, et sont-elles arrivées dans le segment intestinal de réaction alcaline, les bacilles se déve-

(1) *Linoculation préventive du charbon*. Réplique au discours prononcé à Genève par M. Pasteur. Cassel et Berlin. *Th. Fischer*, 1883.

(2) *Experimentelle Studien über die künstliche Abschwammung der Milzbrandbazillen und Milzbrandinfektion durch Fütterung* (*Mittheil. a. d. kais. Gesundheitsamte*, 1884, p. 147).

loppent, se multiplient copieusement et pénètrent dans les tissus, et ensuite dans les vaisseaux sanguins. »

Des résultats analogues, bien que moins constants et réguliers, furent obtenus par les mêmes auteurs en administrant à plusieurs reprises, aux moutons, des quantités bien moindres de spores, fixées sur des fils de soie ou de petits morceaux de papier buvard. « Les petites doses répétées — conclurent-ils — agissent comme les grosses doses administrées d'un seul coup. »

Et, comme en faisant avaler des spores très vieilles les résultats étaient encore plus irréguliers et inconstants, les auteurs attribuèrent ceci au fait que « les spores vieilles sont moins actives, germent avec beaucoup de retard et par conséquent peuvent être éliminées de l'intestin avant même de germer ».

Koch et ses collaborateurs ne se laissèrent même pas impressionner par la constatation qu'ils déclaraient avoir faite chez tous leurs animaux morts de supposé « charbon interne », à savoir : œdèmes laryngés, suffusions sanguines, infiltrations hémorragiques dans les tissus du cou, ganglions salivaires, sous-maxillaires et axillaires de même augmentés, œdémateux, hémorragiques, etc... De telles localisations, selon eux, devaient renforcer les critiques faites à la doctrine pathogénique pastorienne. En fait, du moment que ces lésions, situées à la hauteur des premières voies digestives, se produisaient aussi dans le cas où la porte d'entrée du virus était située indubitablement très loin, c'est-à-dire dans l'intestin, il semblait juste de retenir que les lésions elles-mêmes ne pouvaient avoir aucune importance révélatrice sur la voie d'entrée du virus.

Retrouver des spores virulentes dans les déjections de leurs animaux en expérience, constatation faite déjà antérieurement par Pasteur, Chamberland et Roux (1), n'eut même pas la vertu de fixer l'attention des auteurs. Ils crurent expliquer très sommairement le fait, en supposant que dans ces cas il devait s'agir de spores éliminées de l'intestin « avant de germer » ou de spores « néoformées », c'est-à-dire nées des

(1) Sur l'étiologie du charbon. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1880, **91**, p. 86.

mêmes bacilles développés dans l'intestin, grâce à la température favorable et à la présence dans celui-ci de substances nutritives ».

Toute l'attention de Koch et de ses collaborateurs se concentra sur la constatation des graves lésions congestives et hémorragiques présentées par la muqueuse intestinale, regardée par eux comme le siège de la multiplication et, en même temps, la porte d'entrée des germes spécifiques dans l'intérieur de l'organisme.

Comme conclusion, selon l'Ecole de Koch, le charbon spontané ne serait qu'une « mycose intestinale » provoquée par la germination des spores à l'intérieur et le long de la cavité entérique.

L'infection générale, causée par effraction de la muqueuse intestinale par les bacilles déjà germés et multipliés dans le tube digestif, n'entrerait en scène que dans un second temps.

Cette nouvelle doctrine pathogénique du charbon interne eut la vertu de séduire immédiatement des esprits. Elle fut accueillie sans conteste et sans réserves et devint un dogme pour tous les auteurs.

En effet, dans l'ouvrage *Les Bactéries* de Cornil et Babès (1), paru l'année suivante et bien connu dans tous les laboratoires, les expériences et les vues de l'Ecole de Berlin furent acceptées sans autre commentaire, comme définitives. Les cas d'infection charbonneuse sans pustule maligne sont indistinctement regardés par Cornil et Babès comme des cas de « mycose intestinale charbonneuse ». De plus, à la page 516 et dans la figure 10 (qui s'y rapporte) de la deuxième planche en couleurs, les auteurs décrivent jusqu'à la manière par laquelle les bacilles du charbon réussiraient à pénétrer du contenu gastrique à l'intérieur des glandes à pepsine.

Suivant Cornil et Babès les érosions de la muqueuse intestinale produites par la destruction de la partie superficielle de la couche glandulaire donneraient accès aux filaments bacillaires, qui s'insinueraient ensuite dans la profondeur des cryptes et dans le tissu interglandulaire.

De même, dans le traité remarquable de Nocard et Le-

(1) *Les Bactéries*, Alcan, édit., Paris, 1885.

clainche (1), dans les pages où il est question du charbon expérimental produit par l'ingestion de viandes ou par la déglutition des spores, après l'exposé des expériences de Koch, Gaffky et Loeffler, l'idée de la « mycose intestinale » est acceptée sans plus, ainsi que la doctrine de l'entérogénèse de l'infection charbonneuse. Dans le *Traité d'Hygiène alimentaire* de Rouget et Dopfer (2), au chapitre qui traite de l'étiologie du charbon intestinal, il est admis non seulement que celui-ci peut être produit par des spores dégluties et germées dans l'intestin, mais encore par l'ingestion de viandes charbonneuses crues, fumées, salées, etc..., ou de quelque façon insuffisamment stérilisées.

Même aujourd'hui, dans d'autres ouvrages très répandus parmi les savants, quand il s'agit de décrire le charbon interne ou intestinal, aussi bien chez l'homme que chez les animaux, J. Courmont (3), Dopfer, Rathery et Ribierre (4), Menetrier (5), Dopfer et Sacquépée (6), Courmont, Lesieur et Rochaix (7), Roger (8), etc., répètent à peu près les mêmes choses. Dans l'œuvre classique de Cornil et Ranvier récemment revue par Brault et Letulle (9), on admet sans commentaire que le charbon intestinal peut être une manifestation primitive, une espèce de « pustule maligne interne » généralement localisée dans l'intestin grêle, caractérisée par un prodigieux développement des bactériidies dans toutes les couches de la muqueuse intestinale.

Les auteurs italiens partagent aussi la même opinion : Peroncito (10) dit que les traces de la pénétration du virus charbonneux dans l'organisme peuvent se trouver aussi au niveau de l'intestin.

(1) *Les maladies microbiennes des animaux*. Paris, Masson, édit., 1903, p. 340.

(2) *Hygiène alimentaire*. Paris, Baillière, édit., 1906, p. 251.

(3) *Hygiène industrielle* de Leclerc de Pulligny, Boulin, etc. Paris, Baillière, édit., 1906, p. 585.

(4) *Précis de pathologie interne*. Paris, Baillière, édit., 1912, p. 375.

(5) *Nouveau traité de Médecine et de Thérapeutique* de Brouardel et Gilbert. Paris, Masson, édit., édition de 1912, 4, p. 229.

(6) *Précis de bactériologie*. Paris, Baillière, édit., 1921, p. 399.

(7) *Précis d'hygiène*. Paris, Masson, édit., 1914, p. 653.

(8) *Charbon*. *Nouveau Traité de médecine*. Paris, Masson, 1922, p. 349.

(9) *Manuel d'histologie pathologique*. Paris, Alcan, édit., 1912, 4, p. 632.

(10) *Trattato teorico-pratico sulle malattie degli animali domestici*. Torino, 1905, p. 262.

Dans son traité sur les maladies du travail, Pieraccini (1) écrit, sans plus, que les spores ingérées et échappées à l'action du suc gastrique se développent dans le canal digestif, produisant un charbon intestinal que l'auteur définit « une mycose intestinale ».

De même, dans la dernière édition du traité bien connu sur les maladies infectieuses de l'homme et des animaux, dirigé par Lustig, le chapitre sur le charbon, rédigé par G. Guerrini, rapporte les mêmes conceptions : l'infection naturelle se fait par le tube digestif ; les spores résistent au suc gastrique, mais germent très bien dans le contenu alcalin de l'intestin, où les bactériidies se développent et pénètrent dans la muqueuse intestinale envahissant rapidement l'organisme, etc. (2).

Les auteurs anglo-saxons ne s'expriment pas autrement. Park (3), Fitzgerald (4), Rosenau (5), etc..., dans leurs traités, sont encore plus catégoriques. Ils admettent que le charbon intestinal peut être causé même par le simple usage de viandes infectées ou insuffisamment cuites.

Quant aux auteurs allemands, leur accord sur ce point est naturellement unanime.

Rubner (6) décrit le charbon alimentaire comme dû à la « germination des spores dans l'intestin et à la pénétration des bacilles dans les plaques de Peyer ».

Weichselbaum (7) dit que « l'infection chez les animaux pénètre avec l'aliment » ; Herzfeld (8) retient que, chez les animaux, la porte d'entrée naturelle de l'infection charbonneuse est l'intestin ; Sobernheim (9) écrit que « les spores charbonneuses ingérées germent dans l'intestin et pénètrent dans la muqueuse où elles se multiplient ultérieurement, et, après une réaction locale sous forme d'infiltration hémorragique avec

(1) *Patologia del lavoro e terapia sociale*. Milano, 1906, p. 357.

(2) *Malattie infettive dell'Uomo e degli animali*. Milano, 1922, 2, p. 1146.

(3) *Public Health and Hygiene*. Philadelphie et New-York, 1920, p. 170.

(4) *An introduction to the Practice of Preventive medicine*, Saint-Louis, 1921, p. 262.

(5) *Preventive medicine and Hygiene*. New-York et Londres, 1922, p. 401.

(6) *Lehrbuch der Hygiene*. Leipzig et Vienne, 1900, p. 951.

(7) Th. WEYL, *Epidemiologie. Handbuch der Hygiene*. Iéna, 9, 1897, p. 548.

(8) R. PFEIFFER, B. PROSKAUER et C. OPPENHEIMER, Milzbrand. *Encyclopädie der Hygiene*. Leipzig. Vogel édit., 2, 1905, p. 135.

(9) KOLLE et v. WASSERMANN, Milzbrand. *Handbuch der path. Mikroorganismen*. Iéna, 3, 1912, p. 633.

production d'ulcères, déterminent l'infection générale » ; Kaufmann (1) affirme que le charbon intestinal se présente comme une infection primitive après la consommation de viandes ou d'autres aliments, contenant le bacille du charbon ; Hetsch (2) retient que « les spores qui ont résisté au suc gastrique germent dans l'intestin et pénètrent dans les parois intestinales ». « C'est surtout parce que les spores échappent à l'action du suc gastrique, que le charbon peut se transmettre par voie digestive », disent dans leur traité bien connu Kolle et Hetsch (3). Poppe (4) écrit, qu'aussi bien chez l'homme que chez les animaux, l'infection intestinale est la forme la plus commune de l'infection charbonneuse et est causée par la déglutition des spores, etc.

De même, dans l'Amérique latine, où le charbon est assez fréquent non seulement chez les animaux, mais aussi chez l'homme, J. Penna, J. B. Cuenca et R. Kraus (5) affirment que dans les cas de charbon humain observé par eux dans la République Argentine, il s'agit non pas de localisations secondaires, mais de « charbon intestinal primaire ». Est d'aujourd'hui une note du professeur Lignières (6) de Buenos Aires, dans laquelle sont mentionnés des cas de charbon interne ou gastro-intestinal.

Etant donné, donc, la persistance de l'adhésion générale à cette conception pathogénique, on ne doit pas s'étonner si, dans un mémoire relativement récent, A. S. Brumbaugh (7) se soit cru autorisé à reconstruire la genèse du processus intestinal chez l'homme suivant ces idées.

Il s'agissait de deux sujets robustes morts respectivement quatre et cinq jours après l'apparition d'une pustule maligne à

(1) *Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie*, 7-8 édit., Berlin et Leipzig, 1912, p. 634.

(2) F. KRAUS et T. BRUGNT, *Milzbrand. Spezielle Pathologie u. Therapie innerer Krankheiten*. Berlin et Vienne, 1919, p. 471.

(3) *La bactériologie expérimentale*, 3^e édit. franç., 1918, 4, p. 214.

(4) Neue Ergebnisse der Milzbrandforschung und Milzbrandbekämpfung. *Ergebnisse der Hygiene*, etc. Berlin, 1921, 5, p. 632.

(5) El tratamiento del carbunclo humano, etc. *Rivista del Instituto Bacteriologico del depart. nac. de Higiene*. Buenos Aires, 1920, p. 255.

(6) Les nouvelles acquisitions sur le traitement sérothérapique du charbon chez l'homme. *Bull. de l'Acad. de Médecine*, 7 octobre 1924, p. 983.

(7) Anthrax enteritis. *The Journal of the American med. Assoc.*, 1919, 72, p. 482.

la face. Du fait qu'à l'autopsie de chacun d'eux, on trouva de graves altérations hémorragiques, nécrotiques et ulcératives le long du tractus gastro-intestinal, spécialement à la hauteur des follicules et des plaques lymphatiques, Brumbaugh conclut au diagnostic anatomique d'« entérite charbonneuse », produite par l'infection de l'intestin et causée par les aliments contaminés par les doigts mêmes des deux patients. Les doigts se seraient naturellement salis en grattant les pustules malignes.

La persistance tenace de cette conception pathogénique que depuis quelques années déjà je considérais bien peu vraisemblable, parce qu'en opposition avec le résultat de mes observations sur la façon de se comporter des microbes pathogènes dans le tube digestif de l'homme et des animaux, m'a conduit à entreprendre sur cet argument, spécialement après cette publication de Brumbaugh, les présentes recherches.

II. — Impossibilité de reproduire expérimentalement la soi-disant « mycose charbonneuse intestinale ».

En effet, même après la lecture du rapport sur les célèbres expériences de Koch, Gaffky et Loeffler, il vient à l'esprit une objection très simple et spontanée qui fait immédiatement douter de leur apparente rigueur.

En introduisant, comme il est dit, directement dans l'estomac des moutons les spores charbonneuses bien protégées dans un cylindre de pomme de terre, dans le but d'éviter toute contamination accidentelle de la bouche et de la gorge, ces auteurs ne pensaient peut-être pas que leurs animaux étaient des ruminants.

Or, il est bien connu que les ruminants possèdent un estomac composé qui leur permet de ramener dans la bouche les aliments déjà déglutis et recueillis dans le rumen, pour les soumettre à une seconde mastication plus complète que la première. On sait aussi qu'après cette seconde mastication l'aliment est de nouveau dégluti et par la gouttière œsophagienne, au lieu de retomber dans le rumen, il est dirigé vers le troisième estomac ou feuillette et de là à la caillette où s'effectue la véritable digestion gastrique.

Par conséquent, le procédé expérimental imaginé par Koch et ses collaborateurs dans le but d'éliminer d'une façon absolue tout contact du virus avec la muqueuse buccale devait nécessairement avoir un résultat illusoire.

L'acte physiologique de la rumination se chargeait de lui-même de faire remonter dans la bouche, mêlées aux aliments, ces mêmes spores que les expérimentateurs avaient cru pouvoir introduire directement dans l'estomac, évitant tout contact direct avec la muqueuse de la gorge.

Il eût suffi de noter cette simple circonstance pour nier toute valeur démonstrative à ces expériences et pour faire comprendre, qu'au fond, elles ne pouvaient entacher en aucune façon les assertions et les vues de Pasteur et de son école.

Evidemment, l'inéluctable fatalité d'une contamination de la gorge de la part des spores ramenées dans la bouche par la rumination ne se présenta jamais à l'esprit de R. Koch et de ses élèves.

Mais, malgré le large crédit accordé aux résultats expérimentaux de ces auteurs et nonobstant la pleine adhésion de Flügge (1) et de Baumgarten (2), le problème de la fixation et de la multiplication des bactéries pathogènes dans le canal digestif, comme aussi celui de leur pénétration possible à travers la muqueuse intestinale intacte, même en ce qui concerne le charbon, resta toujours posé durant les quarante dernières années.

De fait, peu après, Korkunoff (3) voulut reprendre la question en expérimentant sur des rats blancs.

Ces animaux, regardés par l'auteur comme assez prédisposés au charbon intestinal, étaient alimentés avec des biscuits souillés de spores, et peu après étaient sacrifiés en série pour les examens microscopiques des parois intestinales. Les résultats de ces examens furent les suivants : absence de bactéries charbonneuses et de leurs spores dans les parois et

(1) *Die Mikroorganismen*. Leipzig, 2^e édit., 1886, p. 190 et 3^e édit., 1896, 2, p. 223.

(2) A. Schott, Berechtigten experimentelle oder klinische Erfahrungen. *Cent. für Bakter.*, 1901, 29, p. 241.

(3) Beitrag zur Frage der Infektion durch Mikroorganismen von Seiten des Darmkanals. *Wratsch*, 1889, nos 48, 50 et 52. Referat dans le *Centralbl. für Bakter.*, 1889, 6, p. 445.

dans les organes lymphatiques de l'intestin; mais les bactéries semblèrent multipliées en grand nombre au niveau de l'épithélium de la muqueuse.

Suivant l'auteur, ce fait aurait dû signifier que lesdites bactéries germées des spores ingérées avaient abondamment proliféré dans le contenu intestinal. Mais quant à la reproduction d'un véritable charbon intestinal ou même d'une infection générale entérogène, ces expériences n'aboutirent à aucune conclusion.

Suivant Korkunoff, seuls les microbes capables d'altérer l'épithélium protecteur de l'intestin seraient en mesure de déterminer l'infection à travers cet organe. Mais aujourd'hui, nous savons bien qu'il n'existe aucun microbe capable d'altérer en quelque façon l'épithélium de la muqueuse intestinale, s'il ne réussit pas à agir sur elle *a tergo*, c'est-à-dire par la voie sanguine.

J'ai depuis longtemps démontré cette particularité, spécialement à l'égard de deux microbes : le bacille typhique et le vibron cholérique que pendant tant d'années on a cru aptes à se développer dans l'intestin humain et à en altérer la muqueuse du côté de son revêtement épithélial (1).

De toute façon, nous devons exclure que le bacille typhique ou le vibron cholérique soient jamais capables d'arriver à l'intestin à travers l'estomac. J'ai bien démontré que ces microbes sont rapidement tués à peine arrivés en contact avec le suc gastrique.

La question laissée sans solution par Korkunoff fut reprise plus tard par Simoncini (2), lequel introduisant dans l'estomac des cobayes, au moyen d'une petite sonde, de grandes quantités de cultures charbonneuses sporifiées, obtenait la mort des animaux. Il attribua simplement ce résultat à une infection intestinale, parce qu'il croyait avoir relevé le long de leur intestin des altérations particulières.

Malheureusement, Simoncini ne compléta pas ces observations et ne dit pas ce qu'il était intéressant de savoir : c'est-à-

(1) A propos du mécanisme d'action des microbes entérotropes. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 9 février 1924, p. 357.

(2) Della penetrazione dei batteri patogeni attraverso l'intestino ecc. *Lavori dell' Istituto d'Igiene della R. Università di Palermo*, 1896, 2, p. 96.

dire si, dans le canal intestinal de ses animaux, s'était effectuée ou non une vraie multiplication de bactériidies.

Beaucoup plus déconcertants sont les résultats de certaines expériences publiées contemporanément par Brotzu (1) sur la façon de se comporter des spores et des bactériidies charbonneuses observées dans l'intestin du chien. Brotzu, après avoir alimenté des chiens avec des cultures charbonneuses, vérifiées asporogènes et avec des viandes d'animaux morts de charbon, c'est-à-dire contenant seulement des formes bacillaires, retrouva dans les fèces de ses chiens des spores du charbon ! Naturellement, il conclut que : « les bacilles du charbon ayant surmonté l'action du suc gastrique et, pénétré dans l'intestin, sporifiaient et les spores étaient émises dans les fèces » !

Quelques années après, un autre auteur, Nikolsky (2), éprouva le besoin de reprendre l'étude de cette scabreuse et obscure question. Nikolsky eut cependant le tort d'accepter comme point de départ de ses expériences un point de fait qui aurait dû lui paraître bien loin d'être démontré. Il accepta *a priori* les idées de Koch, Gaffky et Loeffler. C'est-à-dire qu'il retint que les spores charbonneuses, « passées dans l'intestin des animaux, n'étaient rien moins capables que de se développer en bâtonnets et que ceux-ci, à leur tour, étaient en mesure de pénétrer, ensuite, dans les vaisseaux de la muqueuse ». Il se proposa donc d'illustrer cette thèse : surprendre le moment où commence le passage des microbes à travers les parois de l'intestin avant leur irruption dans le courant sanguin.

Et l'auteur affirma, en fait, avoir observé dans l'intestin des lapins, germées des spores ingérées, le développement de formes végétatives du charbon.

Il assura avoir vu les bactéries disséminées à la surface de la muqueuse intestinale, même vingt-quatre heures après l'ingestion des spores. En outre, sans même se préoccuper de distinguer les lapins sacrifiés de ceux morts de septicémie charbonneuse, il signala la présence de bactériidies à la surface de l'épithélium intestinal, à l'embouchure des glandes de Lie-

(1) Sul passaggio dei germi del carbonchio attraverso l'intestino del cane. *Ufficiale sanitario. Rivista d'Igiene e di Medicina pratica*, 1896, n° 8.

(2) Charbon chez les animaux nourris avec leurs aliments habituels mêlés de spores charbonneuses. *Ces Annales*, 1900, 14, p. 794.

berkühn, etc., jusque chez des lapins sacrifiés le cinquième jour après le repas infectant.

Au terme de son mémoire et malgré les résultats, en vérité si incertains et si contradictoires, de ses expériences, Nikolsky conclut que « chez les animaux nourris avec des aliments infectés de spores charbonneuses, le charbon se développe aussi bien que par infection à travers d'autres voies ». Outre cela, ignorant évidemment que l'intestin grêle des lapins est, à l'état normal, très pauvre en microbes, il conclut encore que « les spores se développent dans le contenu de l'intestin, malgré l'antagonisme des microbes intestinaux et pénètrent progressivement de la muqueuse dans les vaisseaux lymphatiques et de là dans le sang ».

Pour dire la vérité, la lecture du protocole de ces mêmes expériences de Nikolsky induirait à des conclusions bien différentes. Mais, hélas ! pour accroître la désorientation des idées sur cet argument, déjà assez confus, parut peu après un travail de Behring (1).

C'est un fait bien connu qu'en partant du principe que les muqueuses des nouveau-nés se comportent comme des filtres à gros pores, capables de livrer passage aux plus volumineuses molécules, comme par exemple à celles des « albumines vraies », Behring a développé sa théorie sur les infections intestinales dans le jeune âge et sur l'étiologie de la tuberculose.

L'auteur croit non seulement que la primo-infection tuberculeuse chez les nourrissons se produit à travers l'intestin, mais aussi que les bactéries du lait non stérilisé, en se développant dans cet intestin, donnent naissance à toutes les infections si fréquentes dans l'enfance.

Aussi bien dans un cas que dans l'autre, Behring n'a tenu aucun compte des voies de pénétration bien plus directes et faciles de tous les microbes pathogènes et non pathogènes, représentées, spécialement chez les enfants, par l'anneau lymphatique de Waldeyer. De plus, dans le second cas, l'auteur a complètement négligé l'action bactéricide, pourtant si énergique et providentielle, exercée par le suc gastrique.

(1) Ueber Lungenschwindsuchtentstehung und Tuberkulosebekämpfung. *Deuts. med. Woch.*, n° 39, 1903, p. 689.

De toutes façons, Behring a voulu expérimenter aussi sur le charbon et est arrivé aux conclusions suivantes, vraiment paradoxales : 1° Les bacilles du charbon privés de spores, introduits dans l'estomac des cobayes adultes, se montrent sans danger pour ces animaux et sont rapidement éliminés dans les excréments ; 2° Les cobayes nouveau-nés, jusqu'à l'âge de huit jours, infectés par la bouche avec les mêmes bacilles privés de spores, meurent au contraire avec la même rapidité que s'ils eussent été inoculés sous la peau ; 3° Chez ces mêmes cobayes nouveau-nés, les bacilles charbonneux atténués et avirulents pour les cobayes adultes, administrés par la bouche, passent dans le sang sans tuer les animaux. Les voies d'entrée seraient les parois de l'estomac et du cæcum.

Il est cependant nécessaire de noter que, peu après, Uffenheimer (1) ayant répété les expériences de Behring et ayant eu soin aussi de se placer dans les mêmes conditions et d'opérer sur une vaste échelle, ne réussit pas à les confirmer. Il faut ajouter en outre que Klimenko (2) ayant fait l'année suivante de nombreuses expériences en administrant par la bouche, à plusieurs animaux, diverses espèces microbiennes, était aussi arrivé à la conclusion que les parois de l'intestin non lésés des animaux parfaitement sains sont complètement imperméables aux micro-organismes.

Mais un travail ultérieur de Marchesini (3, bien que conduit d'une façon assez sommaire, remet tout en question !

En fait, cet auteur, tuant en série des cobayes à qui il avait administré de la mie de pain imbibée de cultures charbonneuses, décrivit à l'autopsie des choses extraordinaires. Il aurait réussi à identifier des bacilles charbonneux dans l'estomac de ces cobayes même quarante-huit heures après le repas infectant ; il aurait reconnu dans le duodénum et dans le grêle des fragments de bacilles charbonneux en train de pénétrer dans les

1 Experimentelle Studien über die Durchgängigkeit der Wandungen des Magendarmkanales neugeborener Tiere für Bakterien und gewiss Eiweissstoffe. *Archiv für Hygiene*, 55, 1906, p. 1.

(2) Beitrag zur Frage über die Durchgängigkeit der Darmwand für Mikroorganismen bei physiologischen Verhältnissen. *Zeitsch. f. Hygiene*, 48, 1904, p. 67.

(3) Sull'azione dei succhi pancreatico-intestinali sopra i bacilli del carbonchio ematico e sulla penetrazione di questi attraverso le vie digerenti di cavia. *Bollett. della Società Zoologica italiana*, 1908, fasc. 1-2.

parois intestinales même à travers des brèches nécrotiques de la muqueuse, etc., etc.

Comme conclusion, Marchesini admet que les bacilles charbonneux ingérés arrivent tels quels dans la lumière intestinale, où, par « irritation toxique », ils seraient capables de produire des abrasions épithéliales. C'est à travers ces abrasions d'origine toxique que les bactériidies réussiraient à faire irruption dans le torrent circulatoire. Naturellement, la barrière gastrique est considérée comme non existante !

Ici, cependant, se termine la liste des travaux les plus connus, en vérité très contradictoires, peu concluants et pas toujours bien conduits, publiés après les œuvres fondamentales de Pasteur et de Koch sur cet obscur et passionnant problème du charbon intestinal.

III. — Le sort des bactériidies charbonneuses dans le tube digestif des animaux.

Dans le but de me rendre plus exactement compte de la façon de se comporter des bactériidies charbonneuses administrées aux animaux par voie buccale, j'ai entrepris, depuis 1920, diverses séries d'expériences sur les animaux de laboratoire, me servant non seulement de cobayes et de lapins adultes, mais aussi, comme Behring, de cobayes et de lapins nouveaux-nés.

Comme matériel infectant, j'ai usé d'abord des bactériidies asporogènes contenues dans la rate ou le sang de cobayes morts du charbon, et ensuite de cultures sporifiées.

Le nombre de ces expériences a été très élevé. Même le simple résumé des divers protocoles occuperait trop de place. Je crois donc suffisant d'en exposer les résultats réunis, d'autant plus qu'ils ont été assez concordants pour pouvoir permettre des conclusions très simples et précises.

Et tout d'abord : comment se comportent, données par la bouche ou introduites de quelque manière dans le tube digestif, les bactériidies asporogènes contenues dans le sang charbonneux ?

Pour répondre à cette première question, j'ai commencé par

administrer à divers groupes de cobayes et de lapins adultes et à diverses nichées de cobayes et de lapins nouveau-nés des quantités variables de sang charbonneux et des émulsions épaisses de rate charbonneuse, très riches en bactériidies.

Les cobayes nouveau-nés étaient infectés même vingt-quatre heures après leur naissance, quand leur poids était à peine de 60 à 70 grammes. Les lapins nouveau-nés étaient infectés généralement quarante-huit heures après leur naissance, quand leur poids était de 65 à 80 grammes.

L'administration de ce matériel charbonneux, faite à la pipette, a atteint, dans certains cas, des quantités considérables. Chez des animaux adultes, on en donna jusqu'à 2 et 3 cent. cubes en une seule fois; chez les animaux nouveau-nés, les doses varièrent de 3 à 4 gouttes à 1 cent. cube.

Chez certains animaux, une semblable administration fut répétée plusieurs fois.

Le résultat de ces expériences fut toujours uniforme. Aucun des animaux adultes (16 lapins et 12 cobayes) ne contracta le charbon.

Même 10 cobayes nouveau-nés survécurent sans présenter aucun signe morbide; 6 autres cobayes nouveau-nés furent sacrifiés à des époques variables pour l'étude bactériologique.

Sur les 28 lapins nouveau-nés employés dans ces expériences, 20 survécurent, 5 furent sacrifiés à des époques variables pour les recherches bactériologiques et 3 moururent dans les circonstances suivantes.

Il s'agissait d'une même nichée composée de 6 lapins, nés dans la nuit du 21 au 22 mai 1920.

Quatre jours après leur naissance, bien qu'ils parussent assez grêles — leur poids était à peine de 50 à 55 grammes — il fut administré à chacun d'eux cinq gouttes de sang extrait à l'instant du cœur d'un cobaye mort de charbon. Un premier lapin fut sacrifié après douze heures; un deuxième après vingt-quatre heures et un troisième après trente-six heures pour les recherches bactériologiques dont nous reparlerons plus loin. Les trois petits lapins restant furent trouvés morts après trois jours, présentant à l'autopsie, faite peu après la mort, une seule mais typique lésion anatomique commune : l'énorme distension du côlon et du cæcum.

Ces régions de l'intestin apparaissaient transformées — comme on l'observe précisément dans le « choléra intestinal » des lapins nouveau-nés — en une grosse outre unique pleine d'un liquide aqueux, trouble, de réaction alcaline. Tous les autres organes étaient normaux. Les cultures du sang et des divers viscères demeurèrent stériles ; mais, tout le long du canal alimentaire, de la bouche au rectum, on constata une insolite et prodigieuse multiplication de colibacilles. Le liquide cæcal lui-même était une culture pure de colibacilles. Chez un seul lapin, on réussit à isoler même quelques colibacilles dans le sang. Aucune trace de bacilles charbonneux.

La cause de la mort de ces trois lapins demeura donc assez obscure.

Aucun des cobayes nouveau-nés alimentés avec des bactériidies asporogènes ne trouva la mort.

Chez les cobayes et les lapins nouveau-nés sacrifiés à diverses périodes après l'administration buccale de sang ou de pulpe splénique charbonneuse, la recherche des bactériidies resta toujours négative, malgré qu'elle fût particulièrement attentive, spécialement le long du canal digestif. C'est que, à peine arrivées au contact du contenu stomacal, les bactériidies meurent.

En examinant ce contenu chez les lapins et les cobayes sacrifiés entre six et vingt-quatre heures après l'administration de sang ou de pulpe splénique charbonneuse, on trouve que la purée stomacale est constituée par des caillots de lait, au milieu desquels se montrent de petits blocs noirâtres, représentant des résidus de grumeaux sanguins et de minuscules fragments de rate. Dans les préparations de cette matière — préalablement dégraissée par l'éther et ensuite colorée avec la thionine phéniquée — on reconnaît encore distinctement les bactériidies. Mais celles-ci apparaissent à peine colorées en violet pâle, elles ont un aspect irrégulier, des dimensions rapetissées, des contours flous et corrodés, etc., c'est-à-dire qu'elles présentent tous les signes d'une digestion partielle. Les cultures restent, en fait, constamment négatives quant aux bactériidies. Celles-ci, après quelques heures, ne se retrouvent plus dans aucun organe, même pas dans la cavité buccale ! Elles ont toutes été dégluties rapidement et transportées dans la cavité gastrique qui représente leur tombe.

C'est pourquoi j'ai voulu mesurer le pouvoir bactéricide du suc gastrique obtenu par centrifugation.

L'acidité du suc gastrique des cobayes et des lapins adultes ou nouveau-nés est très variable, mais est toujours très élevée.

Le résultat de vingt et une analyses exécutées par mon aide, le prof. Scala, a démontré que le degré d'acidité stomacale, calculé en acide lactique, oscille : chez les cobayes adultes, entre 3,60 et 6,80 p. 1.000 ; chez les lapins adultes, entre 7 et 8 p. 1.000 ; chez les cobayes nouveau-nés, entre 4,50 et 12,8 p. 1.000 ; chez les lapins nouveau-nés, entre 8,60 et 33 p. 1.000. Chez les cobayes morts du charbon, l'acidité stomacale s'abaisse notablement : dans un cas, elle s'abaisse jusqu'à 0,70 p. 1.000.

Ceci ne doit pas étonner. Comme je l'ai déjà démontré dans mes recherches sur le choléra (1), les cobayes qui deviennent malades par suite du processus infectieux et qui subissent, par voie sanguine, une invasion bactérienne de la muqueuse gastrique, présentent, à l'inverse des lapins, ce curieux phénomène : ils perdent peu à peu la faculté de fabriquer de l'acide chlorhydrique, à tel point que leur contenu stomacal finit par devenir alcalin.

Le suc gastrique des cobayes et des lapins, spécialement chez les nouveau-nés, obtenu par centrifugation, est presque toujours stérile. Du reste, un bref séjour à l'étuve à 37° accélère la mort des germes asporogènes éventuels, représentés généralement par des streptocoques et des colibacilles.

Parfois le suc gastrique contient des spores — il s'agit surtout de spores de *B. mesentericus*, du groupe du *B. subtilis* ou du *B. putrificus* — mais puisque les spores de ces bactéries ne germent jamais dans le suc gastrique, leur présence ne trouble en rien les expériences sur les bactériidies.

Voici, en résumé, quelques résultats sur le pouvoir bactéricide du suc gastrique vis-à-vis des bactériidies du charbon.

Les opérations furent conduites suivant la technique habituelle : ensemencement dans 1 cent. cube de suc gastrique d'une grosse anse de sang charbonneux ; prélèvements successifs avec la même anse et cultures sur tubes de gélose.

(1) Le gastro-entérotropisme des vibrions. Ces *Annales*, 1920, p. 991.

I. *Cobaye neuf* (620 grammes). — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 9,2 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies entre cinq et dix minutes.

II. *Cobaye neuf* (580 grammes). — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 6,80 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies après dix minutes.

III. *Cobaye mort de charbon* (520 grammes). — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 2,88 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies après quarante minutes.

IV. *Cobaye mort de charbon* (450 grammes). — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 3,60 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies après trente minutes.

V. *Lapin nouveau-ne* (70 grammes). — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 20,60 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies après deux minutes.

VI. *Lapin nouveau-né* (75 grammes). — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 18,30 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies après deux minutes.

VII. *Cobaye nouveau-né* (60 grammes). — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 12,8 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies après deux minutes.

VIII. *Cobaye nouveau-né* (60 grammes), *mort de charbon en quarante-huit heures*. — Acidité du suc gastrique (en acide lactique) : 4,50 p. 1.000, mort de toutes les bactériidies après trente minutes.

Une expérience de contrôle, faite avec une solution d'acide lactique pur à 3 p. 1.000, eut comme résultat la mort de toutes les bactériidies entre cinq et dix minutes.

De l'ensemble de ces résultats, on déduit nettement que : les bactériidies administrées *per os*, même chez des animaux extrêmement sensibles comme les nouveau-nés, disparaissent en quelques heures jusque sur la muqueuse buccale.

Elles sont incapables de traverser la barrière gastrique où elles meurent et sont digérées dans un temps très court. En fait, le pouvoir bactéricide du suc gastrique est si énergique que les bactériidies succombent en quelques minutes.

Il restait cependant à vérifier si, ayant franchi d'une façon ou d'une autre la barrière gastrique, les bactériidies étaient capables de se multiplier dans le contenu de l'intestin.

Pour résoudre ce point particulier et pour introduire les bactériidies dans l'intestin sans produire d'effraction d'aucune sorte, j'ai eu recours aux expédients suivants : au moyen d'une petite sonde j'ai introduit du sang charbonneux dans

l'intestin par voie rectale et à travers une fistule appendiculaire.

Après les recherches de Uffenheimer (1), confirmées par Dieterlen (2), on sait aujourd'hui que certaines bactéries — par exemple le *B. prodigiosus* — injectées dans les dernières portions de l'intestin, rejoignent rapidement l'estomac, malgré les mouvements péristaltiques de la paroi entérique.

En introduisant, chez des lapins nouveau-nés, des vibrions cholériques par voie rectale, j'ai observé, moi aussi, que ces microbes, peu d'heures après, se retrouvaient dans l'iléon et dans les portions inférieures du jéjunum (3).

C'est pourquoi j'ai répété des expériences analogues, introduisant chez des lapins nouveau-nés et chez des cobayes et des lapins adultes, à travers l'orifice anal, des quantités assez élevées — 0,5-2 cent. cubes — de sang charbonneux.

Aucun de ces animaux ne mourut de charbon. Ayant sacrifié deux petits lapins du poids respectif de 240 et 360 grammes, l'un douze heures et l'autre vingt-quatre heures après l'introduction rectale de sang charbonneux, j'ai réussi chez le premier lapin à isoler des bactériidies dans le contenu du cæcum et de l'iléon. Dans l'intestin du second lapin, sacrifié après vingt-quatre heures, il ne me fut pas possible de retrouver par culture une seule colonie charbonneuse! Mais, à ce propos, l'expérience vraiment décisive fut celle pratiquée sur une lapine porteur d'une fistule appendiculaire.

Dans un de mes précédents mémoires (4) j'ai décrit une méthode assez facile pour obtenir, chez les lapins, la fistule de l'appendice vermiculaire.

A travers cette fistule il est possible, sans effraction d'aucune sorte, de rejoindre au moyen d'une sonde élastique très fine la cavité du cæcum et d'y introduire des cultures microbiennes à volonté. Le 20 juillet j'opérai une lapine, de 2 kilogr. 150, de fistule appendiculaire.

(1) Weitere Studien über die Durchlässigkeit des Magendarmkanals für Bakterien. *Deut. med. Woch.*, 1908, p. 1851.

(2) Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal und seine Bedeutung für die Infektion des Respirationstraktes. *Cent. f. Bakter.*, 45, 1908, p. 385.

3) Le choléra intestinal des jeunes animaux. *Ces Annales*, 1921, p. 745.

4) L'algidité cholérique. *Ces Annales*, 1923, p. 809.

Un mois après, la cicatrisation de l'ouverture fistuleuse était parfaite, si bien qu'à travers purent être injectés dans l'ampoule caecale 4 cent. cubes de sang charbonneux, aspiré dans le cœur d'un cobaye mort, au moment même, du charbon.

La lapine survécut.

Il ne restait donc plus aucun doute : les bactériidies asporulées du charbon sont incapables de se multiplier et de nuire, même introduites en quantités énormes au contact immédiat de la muqueuse intestinale.

Ce pouvoir bactéricide ou inhibiteur des sucs entériques des animaux, à l'égard des bactériidies charbonneuses asporulées, est facile à démontrer aussi *in vitro*.

Si l'on aspire avec une pipette le contenu intestinal d'un lapin nouveau-né, mort de charbon par inoculation sous-cutanée, on obtient presque toujours un liquide muqueux, légèrement coloré en rose, qui, à l'examen microscopique et dans les cultures, se montre assez riche en bactériidies, le plus souvent accouplées. Ces bactériidies sont de provenance sanguine : elles ont été déversées dans l'intestin par les capillaires altérés de la muqueuse. Et parce que la flore bactérienne habituelle de l'intestin n'a pas eu le temps de s'installer, elles se trouvent presque toujours dans le suc entérique à l'état de pureté absolue. Mais, si ce même suc intestinal, riche en bactériidies, est placé à l'étuve à 37°, on voit qu'après dix à douze heures à peine, lesensemencements sur gélose ne donnent plus lieu à des cultures charbonneuses. Les bactériidies sont déjà mortes!

Même si on ensemence directement, dans 1 cent. cube de suc intestinal frais et stérile de lapin adulte, une anse de sang charbonneux, l'on voit que, vingt-quatre heures après, les bactériidies ensemencées sont mortes.

Chez les lapins nouveau-nés l'action microbicide du suc intestinal peut être due exceptionnellement à la réaction du milieu qui se fait acide par la décomposition du lactose du lait. Cependant j'ajoute de suite, que, même en neutralisant l'acidité du suc avec du carbonate de soude, les bactériidies ne se développent également pas : elles y meurent comme d'habitude dans les vingt-quatre heures.

Il est donc, par cela, bien établi que les bactériidies du

charbon, même portées en très grande quantité au contact immédiat de la muqueuse intestinale, sont incapables de s'y multiplier à cause de l'action inhibitrice et microbicide du suc intestinal.

IV. — Une entité morbide
qui n'a plus de raison d'exister en pathologie :
la « mycose charbonneuse intestinale ».

Il restait cependant à voir comment se seraient comportées, dans l'intestin des animaux, les bactériidies sporulées, ou mieux les spores charbonneuses.

Pour ces expériences, de même, au lieu d'animaux adultes, j'ai préféré utiliser des animaux nouveau-nés.

Outre la plus grande sensibilité de ces derniers et pour la raison spéciale évoquée plus haut, je les ai préférés à cause de l'absence ou de l'extrême pauvreté de leur flore microbienne intestinale.

J'ai pensé que ce fait rendrait plus simple et plus rapide l'examen des cultures faites avec le contenu intestinal.

Selon les affirmations des auteurs rappelés au début de cet écrit, j'aurais dû assister à la germination et à la prolifération des spores charbonneuses dans le contenu intestinal de mes animaux. Il était donc licite de supposer que ceci se serait réalisé plus facilement et abondamment dans un intestin pauvre ou dénué de germes comme celui des animaux nouveau-nés!

Mais certaines expériences préliminaires pratiquées sur des cobayes et des lapins adultes confirmèrent, entre temps, un état de fait, connu du reste depuis longtemps. C'est que les lapins et les cobayes peuvent avaler des cultures entières de bactériidies sporifiées, sans prendre le charbon.

Ma surprise fut cependant grande quand je m'avisai de la même tolérance de la part des cobayes et des lapins nouveau-nés!

Ces résultats étaient, en effet, trop en contraste avec les affirmations qui courent dans les traités les plus répandus, suivant lesquels l'infection charbonneuse *per os* se produit « presque

constamment » chez les animaux sensibles, parce que « les spores ingérées germent dans l'intestin et pénètrent dans la muqueuse où elles se multiplient ultérieurement, et, après une réaction locale sous forme d'infiltration hémorragique et de production d'ulcères, déterminent l'infection générale » (1).

Dans les registres de mes expériences se trouvent, en effet, vingt-deux protocoles ayant trait à des cobayes et à des lapins nouveau-nés ayant survécu même après l'ingestion de une, deux et trois cultures sporulées de charbon, émulsionnées dans un peu de lait.

Si le virus employé par moi tuait sûrement les lapins adultes de 2 kilogrammes environ par voie sous-cutanée, même à la dose de 1/10.000^e de culture, il s'ensuit que nos petits animaux nouveau-nés, pourtant si délicats et si fragiles, de 50 à 80 grammes à peine, étaient en mesure de supporter impunément dans le tube digestif, par rapport à leur propre poids, au moins 1.200.000 doses mortelles de charbon.

Il va sans dire qu'après avoir ingéré des quantités aussi formidables de virus, les animaux ne présentèrent aucune immunité envers le charbon inoculé, plus tard, par voie sous-cutanée.

Le phénomène parut, tout d'abord, inexplicable.

J'ajoute cependant, tout de suite, que cette prodigieuse tolérance présentait, de temps en temps, ses exceptions. Quelques cobayes et lapins nouveau-nés, quelques jours après le repas infectant, en général après trois jours, moururent de charbon.

Un petit lapin mourut de charbon douze jours après l'ingestion du virus. Les lapins adultes succombent parfois aussi, spécialement avec les doses fortes (une culture) données par la bouche ou par voie rectale.

Une lapine, porteuse d'une fistule appendiculaire, mourut également après avoir reçu dans l'ampoule cæcale la valeur de trois cultures sporifiées.

Dans ces cas, la mort cependant survint aussi après plusieurs jours. Dans un cas, elle fut vérifiée après seize jours.

Mais chez certains de ces animaux, la porte d'entrée du virus apparut de suite bien manifeste.

(1) SOBERNHEIM, Miltzbrand, in : KOLLE et WASSERMANN. *Handbuch d. path. Mikroorg.*, Léna, 1912, 3, p. 633.

En effet, la présence de tuméfactions caractéristiques, œdémateuses ou gélatineuses, parfois imposantes, à la hauteur des lèvres, du museau ou du cou, indiquait que quelque spore s'était fait un chemin dans le vif des tissus, traversant une solution de continuité accidentelle, dans les muqueuses des premières voies.

Dans ces cas, le tableau bactériologique se montrait en tout identique à celui d'une banale septicémie : dissémination d'innombrables bactéridies dans le sang et dans tous les organes, présence de rares bactéridies dans le contenu intestinal plus ou moins diarrhéique ou hématique.

Car il est nécessaire de noter que chez les animaux morts de charbon inoculé par voie sous-cutanée, on constate parfois, au seul examen microscopique, la présence d'un certain nombre de bactéridies même dans le canal intestinal. Mais ces bactéridies sont toujours rares et proviennent du sang.

Elles conservent en effet la même disposition qu'elles présentent dans le sang circulant ou que l'on observe dans les préparations microscopiques préparées par frottis de la muqueuse gastrique ou intestinale, c'est-à-dire celui de bâtonnets courts, isolés ou réunis en couple. On ne voit jamais ces formes filamenteuses ou en chapelet qui sont caractéristiques de la culture charbonneuse développée dans tout autre milieu liquide.

En outre, ces rares bactéridies se voient et peuvent être isolées dans les segments d'intestin qui présentent la muqueuse plus hyperémiée ou à la hauteur des plaques lymphatiques qui apparaissent tuméfiées, très rouges ou altérées.

Du reste, dans toute septicémie charbonneuse, on vérifie l'hyperémie plus ou moins intense de la muqueuse intestinale et de ses formations lymphatiques, accompagnée çà et là de rupture des capillaires et de petites hémorragies. La présence de globules rouges et de rares bactéridies le long du tube digestif est donc, dans ces cas, bien compréhensible.

Quelquefois, mais rarement, on isole des bactéridies de la bile elle-même où elles arrivent, sans aucun doute, à travers les capillaires de la muqueuse.

Il m'est arrivé cependant d'observer certains cas concernant des cobayes et des lapins morts de charbon à la suite d'administration de spores par voie buccale, et qui ne présentaient

pas d'œdème gélatineux ni au museau, ni dans la bouche, ni au cou, ni aux aisselles, ni dans le médiastin, ni ailleurs.

Et cependant, même dans ces cas, le tableau anatomique et bactériologique constaté à l'autopsie se montrait parfaitement identique à celui d'une septicémie ordinaire.

Même ici les rares bactéridies trouvées dans le contenu intestinal, et par leur minime quantité et par leur disposition particulière, ne pouvaient ne pas être regardées comme d'origine sanguine. Aucun signe d'une prolifération intestinale quelconque, malgré que le contenu entérique de ces jeunes animaux se trouvât, à l'examen microscopique, comme dans les cultures, privé ou presque, de tout autre espèce microbienne. Enfin, aucune lésion visible tout le long du canal digestif. Aucun signe extérieur, aucune différence dans les recherches microscopiques ou dans les cultures faites avec divers organes ou avec le contenu intestinal, qui puissent indiquer une différence quelconque entre cette septicémie sans œdème et les autres septicémies par infection accidentelle des téguments et accompagnées de tuméfactions gélatiniformes.

Par quelle voie ignorée les spores réussissent-elles, dans ces cas de charbon sans œdème, à pénétrer dans le sang et à déclencher la septicémie?

Avant de me préparer à rechercher le mécanisme obscur de ces infections charbonneuses cryptogénétiques, c'est-à-dire qui ne révèlent pas la porte d'entrée du virus, je crus nécessaire de mettre mieux en lumière la façon de se comporter et la destinée des spores charbonneuses dans le tube digestif des animaux infectés par la bouche.

Dans ce but, j'administrai par la bouche à quelques nichées de lapins et de cobayes nouveau-nés, de hautes doses de spores, sacrifiant successivement les animaux à divers intervalles, c'est-à-dire après six, douze, vingt-quatre heures, et après trois, six et douze jours.

Pour obtenir des cultures très sporulées, et pour éviter, en même temps, l'inconvénient présenté par les cultures charbonneuses ordinaires qui sont toujours agglutinées, peu dissolubles et peu manipulables, j'ai cultivé la bactéridie sur gélose sans bouillon de viande (gélose de Buchner).

Après trois ou quatre jours d'étuve, ces cultures ne montrent

qu'un amas de spores libres, avec lesquelles on peut faire des suspensions homogènes dans l'eau physiologique, dosables et manipulables avec toute facilité.

La mort des animaux était obtenue par l'éther et il est superflu d'ajouter combien, dans chaque cas, fut minutieux, à l'autopsie, l'examen microscopique de tous les organes, spécialement de l'intestin et de son contenu.

Pour ce qui est des cultures du matériel aspiré avec les pipettes tout le long du tube digestif, je crus utile d'adopter souvent ce procédé.

Après avoirensemencé, dans divers tubes de gélose inclinée, une partie du matériel recueilli, j'immergeai les pipettes, fermées à la lampe à leur extrémité effilée, pendant dix minutes, dans un bain-marie réglé à 70°. Après cela, avec le matériel chauffé, je faisais une nouvelle série d'ensemencements. De cette façon, j'étais sûr d'ensemencer, dans le second temps, uniquement des spores.

Une simple comparaison, entre la première et la deuxième série de cultures, m'indiquait d'une façon un peu sommaire, mais suffisante toutefois, si, outre les spores, j'avais éventuellement, dans la première série, ensemencé aussi des formes végétatives.

Les résultats de ces recherches ont toujours été assez précis pour rendre inutile la reproduction des divers protocoles d'expérience.

La destinée des spores charbonneuses, ingérées, tant par les cobayes et les lapins adultes que nouveau-nés, se montra, dans tous les cas, parfaitement uniforme.

Les spores traversent toujours sans altération le contenu gastrique, s'éparpillent dans le chyme tout le long de l'intestin grêle, se rassemblent et s'accumulent en quantité énorme dans le vaste réservoir cæcal et de là sont peu à peu éliminées avec les selles.

Cette constatation déjà faite, je l'ai dit plus haut, par Pasteur, Chamberland et Roux, dans leurs premières recherches célèbres sur l'étiologie du charbon, a été récemment confirmée par Holman et Fernish (1).

(1) Spores of *B. anthracis* in the feces of Guinea-pigs fed with anthrax material. *Journal of med. Research*, 1923, p. 98.

Ces spores ne passent jamais dans le sang du cœur.

La distribution, le long du tube gastro-intestinal, des spores ingérées s'effectue avec une extrême rapidité, en peu d'heures. Après six heures, on les retrouve déjà à l'extrémité de l'intestin grêle. L'estomac s'en libère plus ou moins facilement suivant son évacuation plus ou moins rapide et l'échange de son contenu. Le séjour est maximum dans les dernières portions du tube digestif. En dernier lieu, les spores finissent par s'accumuler dans le cæcum où elles peuvent être retrouvées même après un mois.

Le cæcum et son appendice vermiculaire deviennent donc, pour un temps fort long, de véritables réservoirs de spores.

Il ne me fut jamais possible de constater, soit à l'examen microscopique, soit par cultures, un soupçon quelconque de germination de spores ou de développement de bactériidies le long du canal alimentaire des animaux.

Évidemment, les spores charbonneuses sont incapables de germer en présence des sucs digestifs.

J'ai voulu étudier, de plus près, ce fait imprévu, en essayant d'abord sur les spores l'action du suc gastrique, *in vitro*.

Comme je l'ai déjà dit plus haut, il est très facile d'obtenir, par centrifugation, de petites quantités de suc gastrique, plus ou moins dilué, mais très pur, spécialement de la purée stomacale, si souvent amicrobienne, des lapins nouveaux.

Dans le suc gastrique des cobayes et des lapins, même maintenu à l'étuve à 37° plusieurs jours, les spores charbonneuses ne germent jamais, mais elles ne meurent pas. Elles y conservent même, pendant plusieurs jours intégralement, leur virulence.

J'ai suivi pendant plusieurs jours de suite, sous le microscope, dans une chambre humide constamment maintenue à 37°, des spores suspendues dans du suc gastrique de lapin nouveau-né.

Elles n'ont manifesté aucune tendance à un début de germination. Ceci était facile à prévoir. Mais tout à fait nouveaux et imprévus furent, au contraire, les résultats des expériences faites avec des sucs entériques.

Se procurer, même en petite quantité, du suc intestinal de

cobayes ou de lapins, dans des conditions de pureté suffisantes pour ce genre de recherches, n'est pas chose facile.

Néanmoins, au milieu de tant d'expériences et de vivisections de cobayes ou de lapins, tôt ou tard, arrive la bonne occasion qui permet de recueillir, du contenu duodénal ou de quelque anse du jéjunum, un peu de sérosité transparente, fluide, très pauvre en microbes et parfois absolument stérile.

Je me suis souvent contenté même du liquide diarrhéique, recueilli dans une pipette, de l'intestin grêle des lapins morts de choléra expérimental. Parfois, ce liquide très abondant se montre absolument stérile.

Quant à obtenir des sucs intestinaux des lapins nouveau-nés, la chose est encore moins facile. Mais, à condition de se contenter de quelques gouttes, on réussit en certains cas à se les procurer en les aspirant avec de très fines pipettes, spécialement du duodénum ou du jéjunum.

Comme je l'ai déjà démontré dans d'autres circonstances (1), le contenu de l'intestin grêle des jeunes lapins, pendant quelques jours après la naissance, se montre souvent amicrobien. Sa quantité est ordinairement très minime et, par conséquent, ne permet pas de prélèvement. Mais, parfois, quelque anse intestinale se présente gonflée de liquide muqueux, de couleur verdâtre ou jaunâtre, et permet un prélèvement suffisant, même chez les nouveau-nés.

Cette partie des expériences a été, spécialement au début, très délicate et déconcertante.

Disposant seulement d'une quantité limitée de matière, il convenait d'employer de très petits tubes en les maintenant dans l'étuve en chambre humide, dans le but d'empêcher l'évaporation et la dessiccation.

Souvent un suc intestinal qui, après le contrôle microscopique et l'ensemencement sur tubes de gélose, paraissait amicrobien, donnait lieu, après un passage à l'étuve, au développement de bactéries et devenait inutilisable.

Les cas, en effet, sont assez rares où un suc intestinal, même optiquement amicrobien, se maintient stérile après un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve.

(1) Le choléra intestinal des jeunes animaux. Ces *Annales*, 1921, p. 745.

D'autre part, dans l'étude du pouvoir bactéricide de ces sucs intestinaux, il faut avoir toujours présent à l'esprit cette règle : les épreuves doivent être faites, si possible, avec du suc frais, c'est-à-dire peu après son extraction de l'intestin. En vieillissant, même à la glacière, le pouvoir bactéricide de ces sucs — comme je l'avais déjà observé à l'égard du vibron cholérique — s'affaiblit progressivement.

On ne doit donc pas attendre le résultat desensemencements de contrôle. Il faut opérer de suite, se contentant de vérifier chaque fois la stérilité du suc entérique par une attentive observation microscopique. Sauf naturellement à jeter tout, le lendemain, si le matériel se montre souillé.

J'ai cru nécessaire de m'étendre un peu sur ces particularités de technique pour les faire connaître, mais j'ajouterai de suite que les résultats des expériences peuvent être condensés en peu de lignes.

Je dirai donc que, dans le contenu intestinal des cobayes et des lapins, qu'il ait une réaction acide ou alcaline, les spores charbonneuses ne germent jamais.

Si la réaction du milieu est acide — ce qui a lieu souvent surtout chez les animaux à la mamelle — il ne se développe aucun germe, même pas les germes banaux de l'intestin. Les spores charbonneuses n'y germent pas même si l'acidité en est neutralisée avec du carbonate de chaux, ou si on l'alcalinise avec du carbonate de soude.

Quand, au contraire, la réaction du suc intestinal prélevé dans l'intestin est originairement alcaline, les résultats varient suivant que le suc lui-même est amicrobien ou non.

Dans le premier cas, les spores ensemencées sont absolument incapables de germer. Le milieu se montre non fertile, même s'il est maintenu à l'étuve pendant plusieurs jours.

Naturellement, les spores, si elles ne germent pas, ne meurent pas non plus, pendant quelques jours.

Quand, au contraire, le suc intestinal contient déjà quelques germes intestinaux — il s'agit le plus souvent de colibacilles ou de streptocoques — le séjour de vingt-quatre heures à l'étuve favorise rapidement la luxuriante multiplication de ceux-ci et les spores ne germent pas, précisément aussi à cause de cela.

En effet, les spores du charbon sont incapables de se développer en concurrence avec les microbes intestinaux, même si, par hypothèse, les sucs entériques inactivés permettaient leur libre et indéfinie multiplication.

En outre, les bactériidies sont extrêmement sensibles non seulement à la concurrence vitale de tous les microbes intestinaux, mais aussi à leurs produits. Les uns et les autres empêchent absolument, même *in vitro*, une germination quelconque des spores et un développement quelconque des bactériidies.

Si, par exemple, onensemence en même temps, dans un tube contenant du suc intestinal stérile, des spores et des colibacilles, on trouve, le jour suivant, une culture pure de ceux-ci, mais aucune trace de bactériidies.

Si l'on stérilise par la chaleur ou par le toluol un tube de suc entérique où ont cultivé des colibacilles ou des streptocoques, la germination des spores y demeure de même impossible, car les bactériidies ne se développent jamais là où ont végété abondamment les colibacilles ou d'autres microbes.

Même dans le suc intestinal alcalin chauffé à 75° C., ou tyndallisé à 58° pendant plusieurs jours de suite pour en obtenir l'absolue stérilité, les spores charbonneuses ne se développent jamais.

Cette propriété inhibitrice du suc intestinal vis-à-vis des germes du charbon semble vraiment de nature spécifique. Si dans un tube contenant du bouillon ordinaire on ajoute une certaine quantité de suc entérique, les spores n'y germent pas, mais il s'y développe au contraire toutes les espèces de germes intestinaux.

Si, par exemple, à la surface d'une série de tubes de gélose (solidifiée en bec de flûte), on verse quelques gouttes de suc entérique stérile — il suffit quelquefois même de deux ou trois gouttes — et si on maintient ensuite ces tubes couchés dans l'étuve pendant vingt-quatre heures, pour donner le temps au suc entérique de bien pénétrer la surface du milieu nutritif, celui-ci devient impropre au développement des cultures charbonneuses. Les plus abondants ensemencements de spores demeurent infertiles!

Au contraire, dans ces mêmes tubes de gélose-suc entérique se développent parfaitement : le *proteus*, le staphylocoque doré.

le *b. subtilis*, le *b. mesentericus*, moins bien le bacille typhique, et enfin les microbes intestinaux cultivables, à commencer par le colibacille.

Le même résultat se vérifie dans des tubes de gélose où le suc entérique, de lapin ou de cobaye, a été intimement mêlé à chaud.

Le colibacille et les autres microbes de l'intestin, comme aussi leurs produits de sécrétion, manifestent en outre envers la bactériodie charbonneuse une très nette action antagoniste.

Ayant à ma disposition une série de microbes divers (microcoques, streptocoques, bactéries, bacilles, etc.), isolés de l'estomac ou de l'intestin de mes animaux, j'ai voulu éprouver leur action antagoniste sur la bactériodie en semant celle-ci sur de vieilles cultures *raclées* des premiers, ou au contraire en ensemençant lesdits microbes intestinaux sur des cultures, *raclées*, de charbon. Or, le résultat fut celui-ci : tandis que les bactériodies ne se développent pas, ou imperceptiblement, sur les vieilles cultures *raclées* de microbes intestinaux, ceux-ci croissent très bien sur les cultures *raclées* de bactériodies.

Le plus actif parmi les microbes antagonistes du charbon est le colibacille ; le plus indifférent est le *b. mesentericus*. Ce microbe n'empêche pas en effet, *in vitro*, le développement des bactériodies.

Une autre preuve très démonstrative de ces curieux phénomènes antagonistes peut être fournie par l'expérience suivante : sur le bord droit et sur le bord gauche de la surface d'un même tube de gélose, on enseme, par strie, avec une très fine aiguille de platine, des spores charbonneuses. Le jour suivant le tube de gélose présente sur les bords, distants l'un de l'autre, comme deux rubans séparés, deux riches cultures de bactériodies. On fait alors une strie au centre de la gélose, c'est-à-dire entre les deux rubans de culture charbonneuse, avec l'aiguille de platine chargée d'une culture de colibacilles. Après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve, l'ensemencement central a donné lieu à un troisième ruban, représenté par une culture luxuriante de colibacilles.

Si, au contraire, on répète la même expérience en ensemençant d'abord, c'est-à-dire sur les marges de la surface de gélose, les colibacilles, et vingt-quatre heures après, dans l'espace

laissé libre, les spores charbonneuses, celles-ci ne germent pas, ou seulement d'une façon insignifiante, constatable seulement au microscope. Dans ce cas, les bandes microbiennes restent deux, la centrale manque.

Ceci démontre de la façon la plus évidente que les produits de sécrétion des colibacilles empêchent absolument le développement des bactériidies, tandis que les produits de celles-ci sont parfaitement indifférents pour le colibacille et pour quantité d'autres germes intestinaux.

De telles expériences peuvent être variées à plaisir, multipliant les preuves de la manière la plus diverse, mais les résultats ne changent pas. Le phénomène est constant.

Comme conclusion : les spores charbonneuses, quelles que soient les conditions du milieu entérique, ne réussissent pas à germer dans le canal digestif des animaux. Les sécrétions intestinales normales de ceux-ci sont dotées d'un pouvoir antibactérien, capable de réprimer énergiquement la multiplication de tous les microbes intestinaux et de rendre impossible la germination des spores.

Mais celles-ci ne se développent même pas dans les cas où les sécrétions intestinales sont pathologiques et se montrent, même *in vitro*, privées en grande partie de leur pouvoir antibactérien. Ceci se vérifie par exemple dans toutes les entérites hémotogènes, accompagnées d'un flux diarrhéique abondant, que l'on peut provoquer même artificiellement en injectant, dans les veines des animaux, des produits colibacillaires ou divers microbes entérophiles.

Dans ces cas on trouve, en effet, que le contenu de certaines portions de l'intestin grêle est presque toujours transformé en une culture plus ou moins abondante de colibacilles, de streptocoques ou aussi de microbes anaérobies appartenant surtout au groupe du *putrificus*, du *perfringens*, etc.

Or, même dans ces sécrétions intestinales, à pouvoir antimicrobien très affaibli, la germination des spores charbonneuses ne se produit pas, même après stérilisation du milieu.

In vivo la germination n'est de même pas possible à cause du colibacille.

Le colibacille, qui est toujours présent dans l'intestin, prend en ce cas aussitôt le dessus, se multiplie sans mesure tout le

long du tube digestif et paralyse toute manifestation vitale de la spore charbonneuse et de la bactériémie.

Ayant à ma disposition un chien porteur d'une fistule intestinale depuis plusieurs mois — procédé de Thiry-Vella — j'ai voulu éprouver sur les spores et les bactéries du charbon le pouvoir bactéricide du suc entérique de cet animal.

Le 4 août 1923, j'introduisis dans la fistule, protégé par une enveloppe de gaze stérile, un fragment de vieille culture sur gélose de la grosseur d'un pois, riche en spores.

Le petit bloc, tenu par un fil de coton, était extrait de l'anse intestinale chaque jour pour les observations microscopiques et lesensemencements périodiques.

Après huit jours, le fragment de gélose était réduit à un minuscule résidu à peine utilisable pour les recherches. Les spores se montraient toutefois bien vivantes, même le huitième jour, mais tous les examens microscopiques exécutés pendant la durée de l'expérience ne réussissent pas à révéler la présence d'une seule bactérie née de ces spores.

Des expériences successives, faites *in vitro* avec le suc intestinal de ce même chien, ne firent que confirmer le fait.

Le suc entérique que l'on retire de la fistule intestinale d'un chien est toujours si riche en microbes, qu'il n'est pas possible de s'en servir pour ce genre d'expériences sans le tyndalliser au préalable. Mais le suc ainsi traité perd une grande partie de son action bactéricide. On sait que la température de 58° détruit l'alexine. En effet, à doses égales, ajouté à la gélose des tubes ou déposé à sa surface, le suc entérique du chien se montre moins actif que le suc frais de lapin.

Pour empêcher, dans les tubes de gélose, la germination des spores charbonneuses ensemencées, il était nécessaire d'ajouter des quantités de suc bien supérieures.

Malgré cela, dans le suc intestinal de mon chien — dont le poids spécifique à 15° C. était de 1,0307 — les spores charbonneuses ne réussirent jamais à germer.

De même, les expériences faites avec des bactéries asporulées eurent la même issue. De petits tubes contenant 1-2 cent. cubes de suc intestinal, ensemencés avec des bactéries retirées à l'instant même de la rate d'un cobaye mort du charbon, se montrèrent stériles, mais après cinq jours.

Les prélèvements périodiques faits dans l'intervalle avec l'anse de platine montrèrent toutefois, chaque jour, la diminution lente et progressive des bactériidiesensemencées, jusqu'à totale disparition.

La différence avec le suc intestinal *frais* de lapin, capable — comme on l'a vu dans le chapitre précédent — de tuer en vingt-quatre heures toutes les bactériidies contenues dans une goutte de sang, est donc importante.

La nature a donc bien protégé les animaux contre le péril de l'ingestion accidentelle des spores charbonneuses.

Peut-être est-il probable que cette ingestion se produit beaucoup plus souvent qu'on ne le suppose, spécialement dans certaines industries où on travaille les crins, les cuirs, les peaux, etc., et aussi dans certains laboratoires bactériologiques où, depuis des années, on manipule des spores et où on expérimente avec elles de mille manières sur les animaux, et où le personnel en use avec des précautions ordinairement bien insuffisantes.

Malheur si l'intestin était dépourvu des défenses opportunes contre un hôte si terrible !

Et la défense ne consiste pas seulement dans l'action antimicrobienne des sécrétions. Même si les sucs digestifs ne fussent pas en mesure d'exercer, dans l'intestin, une action vraiment inhibitrice et microbicide sur les spores et les bactériidies, il faut retenir que celles-ci ne pourraient également pas se développer à cause de l'acide carbonique toujours contenu dans le canal alimentaire.

Après les études de C. Fränkel (1), et plus spécialement après celles de Scala et de Sanfelice (2), on sait que les bactériidies du charbon sont très sensibles à l'action de l'acide carbonique.

Ces derniers auteurs ont démontré que les bactériidies meurent quand l'acide carbonique se trouve présent, même dans une très petite proportion (0,5050 p. 100.000). Quant aux

(1) Die Einwirkung der Kohlensäure auf die Lebensthätigkeit der Mikroorganismen. *Zeitsch. f. Hygiene*, 5, 1889, p. 332.

(2) Azione dell'acido carbonico disciolto nelle acque potabili su alcuni micro organismi patogeni. *Annali dell'Istituto d'Igiene di Roma*, 11, 1890, p. 237.

spores, en présence de l'acide carbonique, elles sont incapables de germer.

Maintenant, l'on sait bien aussi que l'acide carbonique dans l'intestin de l'homme et des animaux, spécialement chez les herbivores, constitue, à lui seul, la presque totalité des gaz.

Suivant les analyses de Oppenheimer (1), l'acide carbonique forme presque les 90 p. 100 des gaz de l'intestin, où, d'autre part, l'oxygène manque totalement.

Or, dans de telles conditions de milieu, on doit exclure absolument que les spores et les bactériidies charbonneuses puissent se développer dans le canal digestif.

Comme conclusion : ni les spores, ni les bactériidies du charbon ne sont en mesure de germer et de se développer de quelque façon dans le tube digestif des mammifères et, par conséquent, l'hypothétique processus morbide que, même dans les traités les plus modernes, l'on insiste pour désigner du nom de « mycose charbonneuse intestinale », doit disparaître simplement des cadres de la pathologie humaine et vétérinaire.

V. — Façon de se comporter des spores charbonneuses dans les poumons des animaux.

Ce point étant établi, et puisqu'il est démontré que, dans certains cas, l'administration *per os* d'un abondant matériel sporigène produit la mort des animaux sensibles, il y a lieu de se demander : par quelle voie, des corps inertes comme les spores charbonneuses, venues au contact de la muqueuse buccale, se font-elles parfois un chemin dans l'intérieur de l'organisme jusqu'à déclencher une septicémie mortelle, sans produire l'œdème caractéristique à la hauteur du point d'entrée ou d'effraction ?

La clef de cette énigme me fut offerte par une heureuse circonstance.

Ayant poussé jusqu'aux plus menus détails la recherche

(1) Zur Kenntniss der Darmgärung. *Zeitsch. f. phys. Chemie*, 48, 1906, p. 240.

bactériologique exécutée chaque fois sur les organes des lapins adultes sacrifiés en série, après l'administration buccale de spores charbonneuses, il m'arriva de faire une constatation vraiment imprévue.

Je m'aperçus, en effet, qu'en sacrifiant ces animaux quarante-cinq minutes après la contamination par la bouche, on pouvait obtenir des cultures parfois abondantes de bactéries par l'ensemencement fait par frottis de la muqueuse laryngée, de la muqueuse trachéale et même du parenchyme pulmonaire !

Il était évident que, dans ces cas, les spores charbonneuses, après leur dépôt sur la muqueuse buccale, avaient été aspirées ou transportées avec une grande rapidité jusqu'aux poumons.

Dans une thèse expérimentale, conseillée à mon élève Pergher, je lui fis user, au lieu de spores charbonneuses, de spores de *glycobacter*, qui sont très résistantes et très caractéristiques par leur disposition en forme de massue.

Les spores de *glycobacter* sont incapables de se développer dans l'organisme vivant.

Or, ayant enduit la bouche de lapins et de cobayes avec des cultures bien sporifiées de la bactérie ci-dessus, Pergher, aussi, obtint des cultures de *glycobacter* par prélèvements dans la trachée et les poumons des animaux sacrifiés peu après.

D'autre part, étudiant plus soigneusement la bactériologie de l'appareil respiratoire des lapins adultes, cette intéressante découverte m'apparut bien simple.

Contrairement à ce qu'on pense en général, surtout à la suite des publications de Göbell (1), Fr. Müller (2), Klipstein (3), Jundell (4), Barthel (5) et Béco (6), non confirmées d'ailleurs

(1) Inaugural Dissertation, Marburg, 1897, cité par U. QUESNEL. *Zeitsch. f. Hygiene*, 40, 1902, p. 505.

(2) Der Keimgehalt der Luftwege bei gesunden Tieren. *Münch. med. Woch.*, 49, 1897, p. 1382.

(3) Experimentelle Beiträge zur Frage der Beziehungen zwischen Bakterien und Erkrankungen der Athmungsorgane. *Zeitsch. f. klin. Medizin*, 34, 1898, p. 857.

(4) Ueber das Vorkommen von Mikroorganismen in den normalen Luftwegen. *Skandinav. Archiv f. Physiol.*, 8, 1898, p. 284.

(5) Ueber den Bakteriengehalt der Luftwege. *Central. f. Bakter.*, 24, 1898, p. 872.

(6) Recherches sur la flore bactérienne du poumon de l'homme et des animaux. *Archives de méd. expérimentale*, 14, 1901, p. 1.

par un travail ultérieur de Wargunin (1), j'ai trouvé que l'appareil respiratoire des lapins est loin d'être stérile. Au contraire, il abrite souvent une flore abondante et variée, où dominant généralement le streptocoque, de petites cocco-bactéries très communes dans les poumons des lapins, des pneumocoques et enfin des spores appartenant pour la plupart au groupe du *bac. mesentericus*.

On comprend qu'il s'agit vraisemblablement d'une flore bactérienne d'origine buccale. De tous ces microbes, le plus fréquent est une petite cocco-bactérie. D'ordinaire, on le retrouve niché en grandes quantités dans les cryptes laryngées, mais il se diffuse souvent de là, le long de la trachée et des bronches jusqu'à rejoindre les alvéoles.

A des migrations analogues sont probablement soumises les spores charbonneuses déposées sur la muqueuse buccale.

En effet, on les cultive, elles aussi, avec la plus grande fréquence et en plus grand nombre, et aussi plus précocement, dans les mucosités des cryptes laryngées; plus tard, elles se retrouvent aussi le long de la trachée; de temps en temps, irrégulièrement, on les isole, enfin, du parenchyme pulmonaire lui-même.

Il était donc nécessaire de suivre la destinée ultérieure des spores charbonneuses, arrivées à travers la bouche jusque dans les alvéoles pulmonaires.

Or, en sacrifiant une série de lapins infectés par la bouche avec des doses, même assez faibles, de spores charbonneuses, j'ai trouvé, qu'à peine après six heures, celles-ci peuvent être cultivées, non seulement dans tout l'arbre respiratoire, mais encore — quoique plus irrégulièrement — dans diverses anses intestinales et parfois même dans le foie. Après vingt-quatre heures, les spores se retrouvent presque toujours dans la rate.

De telles constatations orientèrent aussitôt mes recherches vers la porte d'entrée des spores, représentée par la surface pulmonaire.

Mais il fallait trouver une méthode simple, sûre et expéditive,

(1) Ueber Mikroorganismen in den Lungenwegen gesunder Thiere. *Wratsch.*, 1887, p. 237; rapporté dans *Zeitsch. f. Mikroskopie.*, 5, 1887, p. 237.

permettant de faire arriver une quantité déterminée de spores dans les poumons des animaux, en évitant des abrasions et des plaies de la peau et des muqueuses.

Or, des expériences sur l'introduction et le mode de se comporter des spores charbonneuses dans les poumons des animaux de laboratoire ont été publiées en grand nombre, depuis les débuts de l'ère bactériologique. Mais les conclusions de toutes les expériences entreprises à ce sujet — et elles ont été très variées et innombrables — ne furent jamais concordantes ni définitives.

Au contraire, elles donnèrent lieu, toujours, à de vives et longues controverses.

C'est Buchner (1) qui ouvrit la série des travaux avec un important mémoire, publié en 1888 avec ses collaborateurs Merkel, Enderlen et Schickhardt. Buchner voulut démontrer que, au moyen d'inhalations humides sporifères et bacillifères, au moyen de pulvérisations sporifères sèches et d'injections directes de cultures dans la trachée, on réussit à provoquer régulièrement le passage de germes charbonneux, du parenchyme pulmonaire dans le sang et par conséquent à déclencher chez les animaux sensibles la septicémie charbonneuse.

Ces publications fondamentales de Buchner furent le point de départ d'une activité expérimentale qui ne s'est pas encore éteinte.

En effet, plus tard, Muskatbluth (2), Wyssokowicz (3), Enderlen (4), répétant avec d'ingénieuses variantes les recherches de Buchner, arrivèrent à peu près aux mêmes conclusions.

Selon ces auteurs, les spores et les bacilles charbonneux arrivés au contact de la surface du poumon, toute lésion mécanique étant évitée, passeraient facilement dans la circulation sanguine en produisant l'infection.

(1) Untersuchungen über den Durchtritt von Infektionserregern durch intakte Lungenoberfläche. *Archiv für Hygiene*, 8, 1888, p. 145.

(2) Neue Versuche über Infection von den Lungen aus. *Centrabl. f. Bakter.*, 1, 1887, p. 321.

(3) Ueber die Passirbarkeit der Lungen für die Bakterien. *Mittheilungen aus Dr. Brehmer's Heilanstalt in Görbersdorf*. Wiesbaden, 1889, p. 297.

(4) Ueber den Durchtritt von Milzbrandsporen durch die intakte Lungenoberfläche des Schafes. *Deutsche Zeitsch. für Thiermedizin und vergl. Pathologie*, 15, 1889, p. 50.

Les spores, d'après Buchner, seraient plus dangereuses encore que les bacilles parce que, se trouvant dans un état de « vie latente », elles constitueraient pour l'organisme un péril plus caché et, par là, celui-ci ne serait pas en mesure de provoquer cette réaction défensive, qui se produit parfois dans les poumons au contact des bacilles et qui rend souvent non fatale la présence de ceux-ci.

Mais, d'autre part, d'autres auteurs, en particulier Morse (1), Hildebrandt (2), Tchistovitch (3), Grammatschikoff (4) et Snel (5), dans une nouvelle série de recherches expérimentales, autrement variées et ingénieuses, arrivaient à la conclusion que la muqueuse pulmonaire est capable de lutter avec succès contre l'action des germes charbonneux, et, aussi, d'être en mesure d'empêcher leur irruption dans le courant circulatoire sanguin.

Toutefois, les discussions longues et assez confuses qui se déroulèrent pendant plusieurs années de suite entre les deux parties en litige, portèrent principalement sur ce point : le choix de la meilleure manœuvre permettant de faire arriver le virus charbonneux dans les poumons, sans produire des exco-riations et des effractions externes et surtout sans contaminer en rien la blessure d'entrée. En réalité, aucun auteur n'a jamais réussi à réaliser d'une façon constante cet idéal expérimental qui semblait irréalisable. C'est seulement en usant de certains artifices (cicatrisation ou cautérisation de la blessure, emploi de petites sondes laryngées, stérilisation et lavage de l'aiguille avant et après son enfoncement dans la trachée, etc.) et surtout en opérant sur un grand nombre d'animaux, que les auteurs déjà cités réussirent, dans quelques cas, à faire arriver dans les poumons des lapins, cobayes, brebis et rats, des doses

(1) Eingangspforte der Infektionsorganismen. *Inaugural Dissertation*. Berlin 1881.

(2) Experimentelle Untersuchungen über das Eindringen pathogener Mikroorganismen von den Luftwegen und der Lunge aus. *Beiträge zur patholog. Anat. u. Physiolog.* von Ziegler u. Nauwerk, 2, 1888, p. 143.

(3) Des phénomènes de phagocytose dans les poumons. *Ces Annales*, 1889, p. 337.

(4) Zur Frage über die Bedeutung der Lungen als Eingangspforte von Infektionskrankheiten. *Arbeiten aus dem pathol.-anatom. Institute zu Tübingen*, 1, 1892, p. 450.

(5) Der Untergang von Milzbrandbacillen in der normalen Lunge. *Zeitsch. f. Hygiene*, 40, 1902, p. 103.

parfois importantes de virus charbonneux, sans entraîner la mort des animaux.

De ces cas exceptionnels d'animaux survivants, ils déduisirent que les poumons sains doivent opposer une grande résistance à la fixation et au passage des bactériidies et de leurs spores.

Mais quant à l'intime mécanisme d'une tolérance si surprenante, les auteurs manifestèrent les opinions les plus discordantes. Morse pensa que les spores étaient simplement tuées dans le tissu pulmonaire; Hildebrandt donne beaucoup de valeur à la part défensive d'un hypothétique processus phlogistique local; Grammatschikoff suppose l'existence d'un pouvoir digestif du poumon; Tchistovitch attribue beaucoup d'importance à la phagocytose; Snel ne donne à celle-ci aucune valeur mais en attribue, au contraire, une très grande à l'action bactéricide propre du tissu pulmonaire, etc.

Après une vingtaine d'années de trêve, la discussion sur le terrain expérimental de l'infection charbonneuse, qui semblait désormais épuisée, a repris aujourd'hui avec un nouvel élan, après une récente publication de A. Besredka (1).

Comme l'on sait, cet auteur a voulu principalement démontrer que la peau est le seul organe sensible à l'infection charbonneuse. En d'autres termes : en ayant soin d'éviter l'infection de la peau, on devrait pouvoir injecter impunément, dans le péritoine, dans les poumons, dans la plèvre et jusque dans les veines des animaux sensibles, plusieurs doses mortelles de virus charbonneux.

Le travail de Besredka a eu l'indiscutable mérite de provoquer, dans ces trois dernières années, une importante série de publications sur l'étiologie du charbon et sur l'immunité anti-charbonneuse. Malheureusement, les travaux ultérieurs de Bachmann, Beltrami et Romat (2), Combiesco (3), Boquet (4),

(1) Vaccination par voie cutanée. Charbon : cuti-infection, cuti-vaccination, cuti-immunité. Ces *Annales*, 1921, p. 421.

(2) Voies d'infection pour le charbon expérimental. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 89, 1923, p. 1122.

(3) Recherches sur le mécanisme de l'infection charbonneuse. Rôle de la peau, etc. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 1923, p. 639.

(4) Rôle des traumatismes dans l'infection charbonneuse du cobaye par les voies digestives. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 1924, p. 260; Sur l'infection charbonneuse du cobaye par inoculation sous-muqueuse des bactériidies. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 90, 1924, p. 72.

Gratia (1), Zironi (2), Neri (3), Glusman (4), Corona (5), Tada Shigeru (6), Lanfranchi et Casalotti (7), n'ont pas pu confirmer les « vues nouvelles » de Besredka.

Ces vues, en réalité, ne sont pas nouvelles !

En effet, la sensibilité cutanée exquise et la très grande résistance du poumon envers le virus charbonneux, avaient déjà été observées et bien décrites, avant Besredka, dans les publications rappelées plus haut, de Hildebrandt, de Snel, de Tchistovitch, de Grammatschikoff, et jusque dans celle de Buchner, lui-même.

Cet auteur, bien qu'ayant toujours soutenu la vulnérabilité et la perméabilité du poumon pour le charbon, avait toutefois reconnu dans cet organe une résistance naturelle si grande, qu'il faut, selon lui, injecter bien 17.000 spores de charbon pour tuer un rat !

La remarquable insensibilité du péritoine du lapin et des cobayes aux injections de charbon, sans infection cutanée, avait été également signalée, avant Besredka, et avec toute la précision désirable par Noetzel (8), par Van Leent (9) et surtout dans le travail complet et très détaillé de Donati (10).

Enfin, la surprenante tolérance des animaux envers les injections intraveineuses de charbon — sans contamination cutanée, bien entendu ! — avait déjà été observée et signalée, avant

(1) Variations microbiennes et infection charbonneuse. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 90, 1924, p. 369; Infection charbonneuse et immunité anticharbonneuse, etc., etc. *Ibid.*, 91, 1924, p. 113.

(2) Sulla recettività al carbonchio e sulla natura della immunità anticarbonchiosa. *Boll. dell' Istituto sieroterapico Milanese*, 3, 1924, p. 181.

(3) Sull' azione patogena di *Bacillus anthracis*. *L'Igiene Moderna*, 1924, p. 69.

(4) Negative resultate bei Immunisierung von Meerschweinchen gegen Milzbrand nach der Methode von Besredka. *Zeitschrift für Hygiene*, 1924, p. 218.

(5) Sull' importanza della cute nel determinismo dell' infezione da carbonchio ematico. *Patologica*, 1924, p. 389.

(6) Ist die Milzbrandimmunität an das Hautorgan gebunden? *Centralbl. f. Bakter. Orig.*, 91, 1924, p. 477.

(7) Cuti e intratesticolare infezione nel carbonchio ematico. *Bollettino d. Sc. med di Bologna*, 2, 1924,

(8) Ueber die Bakterienresorption frischer Wunden. *Deutsche med. Woch.*, 1898, n. 65. Ueber functionelle Resorption und Infection. *Ibidem*, p. 66.

(9) Ueber das Verhalten des *Bacillus Anthracis* in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens. *Centralbl. f. Bakt.*, 38, 1900, p. 737.

(10) Sulla distruzione dei bacilli del carbonchio nell'organismo della cavia. *Archivio per le Sc. mediche*, 29, 1905, p. 479.

Besredka, par le même Noetzel, par le même Donati, et par Roger et Garnier (1).

Besredka ne cite pas les travaux de ses prédécesseurs. Pourtant, on ne peut supposer qu'ils fussent complètement ignorés dans son laboratoire.

En fait, dans les expériences de confirmation de ses « vues nouvelles », que Besredka conseilla, plus tard, à ses élèves Brocq-Rousseau et Urbain (2), Balteano (3) et Aitoff (4), ces expérimentateurs adoptèrent les mêmes méthodes, usèrent des mêmes précautions et des mêmes expédients et artifices, grâce auxquels leurs prédécesseurs avaient réussi à démontrer, bien des années auparavant, les mêmes faits, annoncés aujourd'hui par Besredka comme entièrement nouveaux.

En effet, Brocq-Rousseau et Urbain, dans leurs injections trachéales soigneuses, dans le but de ne pas infecter la peau, ont employé l'expédient du lavage *in situ* de la seringue, déjà imaginé et conseillé précisément par Grammatschikoff. Balteano lui-même, pour démontrer la grande tolérance des animaux aux injections de bactériidies dans les veines, dans le péritoine, dans les plèvres et sous la peau, a répété, en général, les expériences déjà publiées, il y a vingt ans, par Donati, adoptant la même méthode des tubes de verre, imaginés, décrits et déjà largement employés, par cet auteur, dans le but de démontrer la même thèse!

Même M^{lle} Aitoff, ayant voulu démontrer, sur le conseil de Besredka, l'imperméabilité de la muqueuse conjonctivale, ne trouva rien de mieux que de répéter, point par point, les mêmes expériences qu'avec des résultats identiques, Brusafferro (5) effectua il y a trente-cinq ans sur ce point!

Tous ces travaux antérieurs, dans les publications sorties du laboratoire de Besredka, ont été régulièrement publiés

(1) Développement du bacille charbonneux dans les réseaux d'origine de la veine porte. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 58, 1905, p. 863.

(2) De la réceptivité pulmonaire à l'infection charbonneuse chez le lapin et le cobaye. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 90, 1924, p. 4.

(3) L'infection charbonneuse et l'immunité anticharbonneuse chez les lapins et les cobayes. *Ces Annales*, 1922, p. 805.

(4) Inoculation du charbon par la muqueuse conjonctivale. *Ces Annales*, 1922, p. 567.

(5) Esperienze di trasmissione del carbonchio per la congiuntiva oculare. *Giornale di Medicina Veterinaria*, 1889, p. 353; Il virus carbonchioso deposto nel sacco congiuntivale determina l'infezione? *Il moderno Zooiatro*, 1901, p. 6.

avec le nom de leurs auteurs respectifs. De toute façon, même de l'ensemble de cette récente activité expérimentale, rien n'est sorti de nouveau, spécialement pour ce qui aurait pu avoir trait à une méthode sûre, pour faire parvenir le virus charbonneux dans les poumons des animaux, d'une façon simple, à doses calculables et sans danger d'abrasions et d'infections externes.

J'ai donc dû penser moi-même à chercher cette méthode.

Et, heureusement, j'y ai réussi.

Je la décrirai rapidement.

Une culture de charbon, ensemencée sur gélose maigre (agar de Buchner), est maintenue à l'étuve à 37° pendant quelques jours. Je vérifie qu'elle est désormais constituée par une couche abondante de seules spores, et je la dilue, dans le tube même, avec 20 cent. cubes de solution physiologique stérile, mêlant soigneusement avec une pipette.

On obtient, de cette façon, une suspension homogène de spores, qui, répartie sur divers tubes, peut être conservée plus d'un an à la glacière, prête à l'usage, chaque fois, pour les expériences particulières.

Au moyen de cultures sur boîtes, j'ai calculé qu'une goutte de cette suspension, que l'on agite soigneusement à chaque emploi, contient environ 50.000 spores.

L'introduction de la suspension sporifère, dans les poumons des animaux, s'obtient de la façon suivante :

On verse une ou plusieurs gouttes de la suspension, préalablement agitée, dans 2 cent. cubes de solution physiologique et on aspire le liquide dans une seringue d'égale capacité. A l'extrémité de la seringue est appliqué un petit capuchon de caoutchouc, que l'on obtient en taillant l'extrémité d'une poire ordinaire en caoutchouc. Ceci a pour but d'obturer parfaitement la narine pour empêcher le reflux du liquide à projeter dans la cavité nasale.

On applique alors la main gauche, munie d'une compresse de coton imbibée de liquide antiseptique, sur le museau du lapin, qui est solidement maintenu en position verticale par deux assistants.

Par un rapide mouvement des doigts, on comprime et on ferme la narine gauche et on serre, en même temps, la bouche

de l'animal, après avoir introduit habilement l'extrémité de la seringue dans la narine droite.

Le lapin fait aussitôt quelques tentatives d'inspiration. On profite du moment pour pousser énergiquement le piston de la seringue et projeter tout le contenu à travers les fosses nasales.

L'animal ne manifeste aucun trouble et si on le sacrifie aussitôt après, on constate que ses poumons ont été largement arrosés de spores.

Pour ces expériences, on doit préférer les lapins aux cobayes.

Ceux-ci, après avoir reçu l'insufflation nasale, ont coutume d'éternuer obstinément, projectant à l'entour des gouttelettes sporifères, ce qui, pour des raisons compréhensibles, doit être évité.

Les lapins, au contraire, supportent l'injection nasale avec leur habituelle indifférence.

Pour ce qui est des doses, je dirai de suite qu'une goutte de la suspension de spores sus-indiquée, diluée dans 2 cent. cubes de solution physiologique, n'a presque jamais de conséquence : elle est bien supportée.

Cette dose (I goutte) correspond à peu près à la 400^e partie d'une culture totale sporifiée et contient, comme il a été dit, 50.000 spores.

Une dose double (II gouttes), ou 100.000 spores, produit, au contraire, presque toujours la septicémie charbonneuse. Cependant, alors qu'on aboutit à ce résultat, à l'autopsie des animaux on observe, de coutume, des pleuro-pneumonies ou médiastinites charbonneuses, accompagnées d'œdème gélatiniforme plus ou moins accentué de la région.

Bien entendu, dans le relevé numérique des spores projetées dans l'arbre respiratoire du lapin à travers les narines, on ne peut calculer celles qui restent nécessairement adhérentes à la muqueuse des fosses nasales. J'ajouterai, en outre, que l'on peut introduire, impunément, dans les fosses nasales des lapins, de très grandes quantités de spores : même VI-VIII gouttes de l'émulsion sporifère, à savoir 300-400.000 spores !

Cette question du nombre des spores nécessaires pour produire le charbon chez les animaux a été déjà l'objet de diverses recherches. Mais les résultats obtenus par les auteurs sont très

discordants et non comparables entre eux. La virulence de la culture et les animaux ne furent pas toujours les mêmes. En certains cas, on fit la numération des spores, dans d'autres celle des bactériidies.

Pour donner une idée de ces profondes discordances, il suffit de dire que pour tuer un lapin, par voie sous-cutanée, il faudrait : suivant Noetzel (1), 50 bactériidies; suivant Chauveau (2), 100; suivant Bertarelli et Bocchia (3), 800; suivant Pane (4), plus de 6.000, et suivant Emmerich (5), 50.000!

Dans le but d'étudier la destinée des 50.000 spores projetées dans les voies respiratoires des lapins, on peut suivre deux voies : ou bien on fait des prélèvements périodiques dans une veine marginale ou jugulaire pour surprendre et suivre l'irruption des spores dans la circulation sanguine, ou bien on sacrifie les animaux en série en pratiquant les cultures sur tous les organes.

J'ai éprouvé l'un et l'autre moyen.

Et j'ai ainsi observé que les spores arrivées au contact de la surface pulmonaire, passent dans la circulation avec une rapidité si surprenante, qu'elle rappelle celle que j'observai du passage dans le torrent sanguin des vibrions cholériques injectés dans le péritoine ou les poumons des lapins (6).

Ainsi, par exemple, après l'introduction des spores charbonneuses dans la trachée d'un lapin, on obtient des colonies de cultures faites avec le sang périphérique prélevé à divers intervalles d'une veine marginale, au moyen d'une aiguille paraffinée, au bout d'une seule minute après l'injection!

La présence des spores dans le sang fut constatée successivement dans les cultures après dix-huit, vingt-cinq, trente-deux, trente-huit minutes et jusqu'après six heures.

(1) Ueber die Bakterienresorption frischer Wunden. *Deutsche mediz. Wochen.* 1898, p. 65.

(2) Des causes qui peuvent faire varier les résultats de l'inoculation charbonneuse. *C. R. de l'Acad. des Sciences*, 90, 1880, p. 1526, et 92, 1881, p. 510.

(3) Ricerche sperimentali sul numero dei germi e le infezioni. *Rivista d'Igiene e di Sanità Pubblica*, 1914.

(4) Sull' azione del siero del sangue del coniglio, del cane e del colombocontro il b. del carbonchio. *Rivista clinica e terapeutica*, 1891, p. 149.

(5) Die Heilung des Milzbrandes. *Archiv für Hygiene*, 6, 1887, p. 442.

(6) Voies de pénétration et de sortie des vibrions cholériques dans l'organisme animal. *Ces Annales*, 1923, p. 364.

Des résultats analogues ont été obtenus par mon élève Pergher dans ses expériences avec des spores de *glycobacter*, injectées dans les poumons des lapins.

Plus tard, l'isolement des germes dans le sang périphérique devient rare et fortuit. Mais à partir de la sixième heure, même après la projection dans les poumons d'une seule goutte de suspension sporifère — dose, comme il a été dit, généralement bien supportée — les spores se retrouvent déjà, à l'autopsie, dans les organes où la circulation capillaire est, pour des raisons anatomiques, plus lente, par exemple dans le foie.

Successivement, les spores peuvent être isolées, en plus ou moins grande abondance, de l'intestin, qui représente leur émonctoire naturel et leur réceptacle terminal. Sur ce point aussi, mon élève Pergher a fourni une confirmation des plus démonstratives avec les spores du *glycobacter*. Après avoir introduit les spores dans la trachée d'un chien porteur d'une fistule de Thiry-Vella, il a isolé plusieurs fois les mêmes spores du suc entérique sécrété par l'anse isolée, depuis la première heure jusqu'à la sixième. De ces expériences ressort, en outre, une donnée très certaine : après vingt-quatre heures, on trouve toujours nichées dans la rate une certaine quantité de spores charbonneuses qui y sont parvenues du poumon, par la voie sanguine. Les spores incluses, de cette façon, dans les divers organes y restent inertes pendant longtemps.

Je n'ai pas fait sur ce point des recherches périodiques et régulières, mais d'après quelques protocoles bactériologiques, concernant des lapins sacrifiés ou morts pour des causes diverses, après avoir reçu dans l'appareil respiratoire des doses submortelles de spores, j'ai pu cultiver ces dernières dans les poumons même après treize jours et dans la rate même après cinq jours.

Il est toutefois probable que leur persistance dans quelques organes puisse être encore plus longue. Ayant eu l'occasion de faire des recherches analogues avec des spores de *b. subtilis*, j'ai trouvé qu'à l'autopsie des lapins ayant reçu auparavant, dans les poumons, la projection de quelques spores, on obtenait des cultures de *b. subtilis* : du sang circulant, après cinq minutes; des poumons, du foie et de la rate même après trente-sept jours.

Cette dernière observation est, évidemment, en contradiction avec ce qu'ont écrit Wyssokowicz (1), Buchner (2) et Paul (3), lesquels ont dit que les spores de saphrophytes et particulièrement du *b. subtilis*, introduites dans les poumons, ne passeraient jamais dans le sang, mais seraient détruites *in situ* et ne seraient jamais transportées à l'aide des phagocytes.

Quant à la longue persistance des spores de *b. subtilis* par rapport à la disparition relativement si rapide des spores charbonneuses des poumons et des organes des lapins, la chose ne doit pas étonner. Les spores du *b. subtilis* sont retenues longtemps tant dans les poumons que dans les autres viscères, de la même façon, bien connue, que les corpuscules de noir de fumée dans les poumons et les filtres glandulaires. Les spores de *b. subtilis*, ne pouvant se développer dans l'organisme vivant, se comportent dans les tissus, comme des particules inertes. Au contraire contre les spores d'un microbe pathogène, comme la bactérie charbonneuse, l'organisme animal engage toujours et immédiatement une lutte de défense; bien que cette défense, comme l'a bien décrit Trapeznikoff (4), dans la peau des animaux sensibles comme les lapins, doive finir par demeurer inefficace.

De toute façon, le fait plus particulièrement intéressant pour nous est le suivant : les spores charbonneuses, ayant pénétré dans la circulation générale par les voies respiratoires, sont transportées rapidement dans les divers organes où elles peuvent rester incluses pendant plusieurs jours sans donner lieu à aucun trouble. C'est seulement par exception, dans le cours de mes expériences d'insufflation pulmonaire sur des lapins, avec des doses submortelles de spores, que j'ai vérifié la mort par charbon. Mais dans ces très rares cas, l'œdème caractéristique du museau et du cou révélait l'infection accidentelle de la muqueuse de la bouche, des cavités nasales ou de l'arrière-gorge, favorisée par quelque solution de continuité.

(1) Ueber di Passierbarkeit der Lungen für die Baktrien, *loc. cit.*

(2) *Loc. cit.*

(3) Ueber die Bedingungen des Eindringens der Bakterien der Inspirationsluft in die Lungen. *Zeitsch. f. Hygiene*, 4, 1902, p. 468.

(4) Du sort des spores de microbes dans l'organisme animal. Ces *Annales*, 1891, p. 362.

J'ai voulu étudier aussi le mécanisme qui règle le transport si rapide des spores charbonneuses de la surface pulmonaire à l'intérieur des autres viscères et enfin dans l'intestin.

Parmi les nombreux auteurs qui ont voulu étudier les effets de l'introduction du virus charbonneux dans la trachée des animaux sensibles, seul, Buchner a décrit le sort réservé aux spores.

Les conclusions de Buchner sont très laconiques. Cet auteur a calculé qu'il faut 17.000 spores pour tuer un rat infecté par la voie pulmonaire.

Les spores germeraient dans les alvéoles pulmonaires et les bactériidies, à travers les parois alvéolaires, pénétreraient directement dans les capillaires sanguins à la suite d'un « processus actif » ce qui équivalait à dire : simplement mécanique. L'intervention éventuelle des phagocytes aurait seulement le but principal de circonscrire l'infection.

J'ai fait, à ce propos, de nombreuses observations en série, me servant d'une méthode de coloration beaucoup plus simple, plus expéditive et plus sûre, que celle trop imparfaite (examen des sections de poumon fixé dans l'alcool) employée par Buchner, ou que celle, trop longue et infidèle (double coloration avec la fuchsine phéniquée) usitée par Trapeznikoff, dans ses recherches sur le sort des spores charbonneuses injectées dans le sac dorsal des grenouilles ou dans le tissu sous-cutané des cobayes et des lapins.

La méthode de coloration de mon assistant Alessandrini (1), qui consiste dans un traitement à chaud par la fuchsine phéniquée, suivie de décoloration par la solution à 5 p. 100 de sulfite de soude et dans la double coloration avec une solution de bleu de méthylène ou de vert malachite, permet d'obtenir rapidement, sur des lames garnies de très minces frottis de suc pulmonaire, des images très délicates et très démonstratives.

Ce procédé rapide de coloration a, sur ceux usités jusqu'ici, l'avantage de préparer et d'examiner en peu de temps un grand nombre de préparations. Et ceci est absolument nécessaire, spécialement quand la quantité des spores projetées dans le poumon est relativement petite, comme dans quelques-uns des cas que j'ai étudiés.

(1) Sulla colorazione delle spore. *Annali d'Igiene*, 1:22, p. 362.

Or, des observations faites sur une double série de lapins sacrifiés à divers moments après avoir subi des projections de spores à travers la cavité nasale, j'ai pu comprendre aussitôt les affirmations contradictoires de ceux qui ont admis ou nié la perméabilité de la surface pulmonaire intacte aux spores du charbon. J'ai, du même coup, expliqué les conclusions de Buchner, en réalité trop absolues. C'est-à-dire, j'ai constaté que les résultats des observations microscopiques varient suivant la quantité des spores projetées dans le poumon.

Si le nombre des spores est discret, comme lorsqu'on projette à travers la cavité nasale la dose submortelle d'une goutte, soit 50.000 spores, on n'observe dans les poumons aucune germination de celles-ci. Même après trente minutes seulement, on trouve, dans les préparations du suc pulmonaire ou du raclage de la muqueuse trachéale, de nombreux leucocytes contenant des spores nettement colorées en rouge. Il s'agit de leucocytes polynucléaires, les microphages, et de grandes cellules volumineuses mononuclées, les macrophages, dont la fonction phagocytaire dans le poumon est bien connue. Dans aucune préparation on ne voit de spores libres. Après six heures, le nombre de leucocytes sporifères commence à se raréfier, mais dans aucun de ceux-ci on ne réussit à voir un soupçon quelconque de germination ou de développement de bactériidies.

Après douze heures, alors que les cultures révèlent encore la présence de spores dans les poumons, dans les préparations microscopiques on ne réussit à dépister qu'à grand'peine quelques cellules sporifères. Aucun signe de développement de bactériidies, ni dans les cellules, ni en dehors d'elles.

Au delà de vingt-quatre heures, bien que les cultures montrent encore dans les poumons, comme dans les jours suivants, la présence de spores, la recherche au microscope des phagocytes sporifères reste désormais infructueuse.

La disparition de la plus grande partie des spores des poumons s'effectue donc avec une rapidité surprenante. La prodigieuse activité des phagocytes qui entrent aussitôt en action ne permet pas à celles-ci la moindre possibilité de germination. Le fait qu'on en constate la présence dans le sang périphérique, quelques minutes après leur projection dans les voies respiratoires, témoigne la foudroyante rapidité avec laquelle les spores

sont saisies par les cellules et transportées directement dans la circulation générale, sans le passage supposé obligatoire — qui serait nécessairement assez lent — à travers les glandes lymphatiques régionales.

Du reste, l'extraordinaire vascularisation des poumons, qui est égale à la totalité de celle du corps, explique parfaitement bien le phénomène.

Le tableau cytologique est tout autre lorsque les spores sont projetées dans les poumons des lapins, à dose mortelle, c'est-à-dire quand le nombre des spores atteint le chiffre de 100.000.

Dans ces cas les observations microscopiques confirment et expliquent les résultats de Buchner.

En effet, en sacrifiant les animaux, en série, on trouve que l'englobement des spores par les macrophages commence presque aussitôt, environ quinze minutes après, et se poursuit successivement sans interruption. Mais, après six heures, aussi bien dans les préparations de suc pulmonaire que dans celles faites par frottis de la muqueuse trachéale et des grosses bronches, on commence à voir des bactéridies, constituées même de 2 à 4 articles.

Après douze heures, outre la présence de phagocytes contenant encore quelques spores et quelques bactéridies, on trouve des filaments libres.

On comprend bien que l'action des phagocytes est au-dessous de la tâche imposée par la présence des spores en nombre excessif. Beaucoup de celles-ci, demeurées libres, germent à leur aise. Il semble, en effet, que le tissu pulmonaire reste absolument passif dans la lutte cellulaire dont il est le théâtre. Après vingt-quatre heures, il conserve encore un aspect normal. On trouve bien quelques spores intracellulaires, mais aussi çà et là de petits amas de bactéridies parfaitement bien développées. Évidemment, la défense a cédé et les centres germinatifs de divers bactéridies ne trouvent plus aucun frein contre leur développement ultérieur.

Ainsi se trouvent expliqués les phénomènes différents consécutifs à la projection, dans les voies aériennes des animaux sensibles, de doses soit mortelles, soit submortelles, de spores charbonneuses.

De même on comprend mieux, maintenant, le mécanisme de

l'infection charbonneuse dans les cas où la mort des lapins s'observe après l'administration d'énormes quantités de cultures sporifiées par voie buccale, anale, ou à travers une fistule appendiculaire.

Nous savons maintenant très bien que les spores arrivées au contact de la muqueuse buccale peuvent être en partie aspirées ou transportées dans les poumons.

On comprend donc que le nombre des spores qui envahiront les poumons pourra être plus ou moins élevé, suivant les doses de ces spores placées ou introduites dans la bouche. Ainsi s'explique l'observation de Koch, Gaffky et Loeffler, suivant laquelle : « de petites doses répétées de spores agissent comme de fortes doses données en une seule fois » (1).

Quant à l'infection provoquée par voie anale ou à travers une fistule appendiculaire, on sait par les recherches physiologiques de Grutzner (2), confirmées par d'autres auteurs, que les particules inertes injectées même dans les dernières portions du tube digestif, remontent rapidement l'intestin et arrivent en peu de temps jusque dans l'estomac malgré les mouvements péristaltiques des parois intestinales.

D'autre part, Uffenheimer (3) et Dieterlen (4) rapportent que Kast, dans la clinique de Ewald, a démontré que même des particules inertes — comme les spores de lycopode — peuvent remonter de l'estomac dans la bouche.

Après ce que je viens d'exposer, il serait superflu d'insister sur l'importance pathogénique de ces rapports curieux et insoupçonnés entre le contenu de l'appareil digestif et l'arbre respiratoire, et sur la façon dont les spores de charbon, déposées sur la muqueuse buccale ou remontées jusqu'à celle-ci de l'intestin, peuvent se faire un chemin jusque dans les alvéoles pulmonaires.

(1) *Loc. cit.*, p. 168.

(2) Zur Physiologie der Darmbewegung. *Deutsche med. Woch.*, n° 48, 1894, p. 897.

(3) Weitere Studien über die Durchlässigkeit des Magendarmkanales für Bakterien. *Deutsch. med. Woch.*, 1906, p. 1851.

(4) Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal und seine Bedeutung für die Infektion des Respirationstraktus. *Centr. für Bakter.*, 45, 1908, p. 385.

VI. — Comment se développe le charbon « interne » chez les porteurs de spores charbonneuses.

Après ce qui a été exposé dans le chapitre précédent, il est facile de comprendre comment peut se produire une infection charbonneuse à manifestations locales plus ou moins importantes, dans les cas où la quantité des spores arrivées jusqu'aux poumons est excessive.

Mais ces conditions, réalisables seulement par des artifices expérimentaux, sont bien loin de représenter ce qui se passe dans la nature.

Il faut retenir que, dans des circonstances déterminées, une petite quantité de spores, ou même une seule spore, peuvent être en mesure de germer dans quelque organe interne et de déclencher la septicémie charbonneuse, ou charbon dit « interne » ou « spontané ».

Or, nous démontrerons bientôt comment on peut entendre la genèse probable de ce tableau morbide.

Nous avons vu que les spores projetées dans les poumons en petit nombre sont englobées par les leucocytes, transportées rapidement dans la circulation générale et arrêtées, plus ou moins longtemps, dans certains organes internes avant d'être digérées par les phagocytes ou expulsées dans l'intestin.

Si, dans ces conditions, les spores ne germent pas et restent en état de vie latente, cela veut dire qu'elles se trouvent séquestrées et immobilisées à l'intérieur des cellules.

La phagocytose a, indubitablement, une importance capitale dans la protection de l'organisme, même contre le charbon « interne ».

Dans de telles conditions, la façon de se comporter des spores charbonneuses, vis-à-vis de l'organisme vivant, est identique à celle si bien décrite par Vaillard et Vincent (1), et Vaillard et Rouget (2) à l'égard des spores tétaniques.

Ces spores sont, en effet, inaptes à végéter dans l'organisme vivant, quand elles ont été préalablement lavées ou chauffées

(1) Contribution à l'étude du tétanos. Ces *Annales*, 1891, p. 1.

(2) Contribution à l'étude du tétanos. *Ibid*, 1892, p. 386.

à 80°, dans le but de les débarrasser de la toxine qui leur est adhérente.

Les spores, rendues atoxiques, ne germent que lorsqu'elles sont favorisées par quelques agents prédisposants : associations microbiennes, acide lactique, tri-méthylamine, chaleur, traumatismes, etc.

Étant donné que les spores charbonneuses, transportées dans la circulation après leur pénétration dans les poumons, séjournent dans la rate des lapins, où elles sont constatées presque toujours à partir de vingt-quatre heures, j'ai fixé plus particulièrement mon attention sur cet organe.

Intervenir, à un moment donné, pour mettre en liberté par des procédés divers les spores bien vivantes mais prisonnières des phagocytes, a fait l'objet d'une nouvelle série de recherches.

Dans le but de réduire au minimum le traumatisme nécessaire pour atteindre la rate, je retiens et conseille la méthode suivante.

On fait une petite incision parallèle en suivant exactement le bord de l'arcade costale gauche. A peine arrivé dans la cavité, on rencontre la grande courbure de l'estomac. On enfonce, en rasant cette courbure, une pince anatomique et on atteint bientôt la rate qui est délicatement attirée à l'extérieur. La manœuvre accomplie, on renfonce la rate, on fait une suture à deux plans et on protège la plaie avec du collodion. Les animaux supportent parfaitement bien le très bref traumatisme opératoire.

Pour libérer les spores contenues dans la rate de leur prison leucocytaire, j'ai employé les procédés les plus variés. Avant tout, j'ai eu recours aux injections parenchymateuses de substances capables d'altérer les leucocytes, tout en respectant les spores, ou aptes à détruire, de quelque façon, l'équilibre de leur symbiose.

Pour éviter les hémorragies, l'injection était pratiquée avec une aiguille très fine qui était enfoncée profondément dans l'extrémité acuminée de la rate. Avant de retirer l'aiguille, on serrait avec un nœud de soie très fine le point perforé. De cette façon, on évite non seulement tout épanchement de sang, mais aussi toute possibilité de contamination du péritoine.

En l'occurrence, l'opération accomplie, on désinfecte avec

un badigeonnage d'iode le point de l'injection et de la ligature hémostatique.

En fait, par ce procédé, j'ai réussi plusieurs fois à injecter directement dans la rate des spores ou du sang charbonneux, obtenant la mort des animaux par septicémie charbonneuse sans qu'il fût possible d'isoler, à l'autopsie, une seule bactérie dans le péritoine et sans que fût visible aucune réaction au niveau de la plaie abdominale.

Je fais allusion en passant à ces résultats, parce qu'ils documentent, une fois de plus — en confirmant ceux de Combiesco (1) — la croyance erronée de Besredka (2) suivant lequel, à l'exception de la peau, « le virus charbonneux n'aurait aucune prise sur d'autres tissus ou organes ».

Aucune opération sur la rate des lapins ne fut effectuée moins de vingt-quatre heures après la projection des spores dans les poumons et j'ajoute que, outre les injections déchaînantes dans la rate, qui ont été en plus grand nombre, j'en ai fait également dans d'autres organes : poumons, foie, reins, parois intestinales et tissu cellulaire sous-cutané.

D'abord j'ai voulu éprouver l'action des substances simplement cytolytiques, c'est-à-dire nocives ou toxiques pour les leucocytes : arsenic, quinine, acide lactique, nucléinate de soude, hyposulfite de soude, glucose et peptone.

Mais, par la suite, ayant obtenu des résultats favorables avec l'injection de ces substances dans divers organes et tissus, je crus nécessaire de développer les expériences, étendant les épreuves à d'autres substances : lait, sang, cultures microbiennes vivantes ou mortes, et enfin eau distillée et même solution physiologique, injectées non seulement dans le parenchyme splénique, mais aussi dans les veines.

Voici les résultats très sommaires de toutes ces expériences :

EXPÉRIENCES AVEC L'ARSENIC.

On sait que l'arsenic trouble profondément, comme le phosphore, la nutrition intime des tissus, déterminant des altéra-

(1) Recherches sur le mécanisme de l'infection charbonneuse. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 89, 1923, p. 640.

(2) De la vaccination du cobaye contre le sang charbonneux. *Ces Annales*, 1922, p. 562.

tions histologiques et lésant d'une façon particulière les globules blancs. Il était donc tout indiqué pour ce genre de recherches.

J'ai employé la solution officinale de Fowler (arsénite de potasse) qui contient 1 centigramme d'acide arsénieux par gramme de solution.

La dose minima mortelle pour les lapins est de 1 milligramme d'anhydride arsénieux pour 100 grammes de poids. L'injection de 1 cent. cube de liqueur de Fowler (= 10 milligrammes d'acide arsénieux) est donc parfaitement bien tolérée dans la rate de lapins neufs de poids moyen.

Si l'on injecte 0 c. c. 75 de liqueur de Fowler (= 7 milligr. 5 d'acide arsénieux), c'est-à-dire la moitié de la dose minima mortelle, dans la rate de lapins d'environ 1 kilogr. 500 ayant reçu vingt-quatre heures auparavant, dans les poumons, une projection submortelle de spores charbonneuses, les animaux meurent régulièrement de charbon dans l'espace de quarante-huit heures.

A l'autopsie, on trouve les poumons d'aspect normal et la rate friable, mais de dimensions ordinaires. Aucun signe d'œdème ou d'infiltration hémorragique d'aucune sorte.

Si à la projection pulmonaire de la dose submortelle de spores (1 goutte) l'on fait succéder, par voie nasale, la projection de 1 cent. cube de liqueur de Fowler diluée dans une quantité égale d'eau, les lapins meurent de septicémie charbonneuse quatre à cinq jours après, mais présentant à l'autopsie, outre un œdème diffus du cou et du médiastin, une pleuro-pneumonie charbonneuse avec lobes pulmonaires hépatisés et friables et épanchement d'un abondant exsudat séreux (jusqu'à 25 cent. cubes) dans les plèvres.

Dans ces cas de charbon à marche prolongée, la rate se montre toujours peu augmentée; parfois aussi elle est diminuée de volume, noirâtre et flasque.

Bien entendu, la projection de 1 cent. cube de liqueur de Fowler dans les poumons de lapins neufs ne donne lieu à aucune espèce de troubles.

EXPÉRIENCES AVEC LA QUININE.

Les sels de quinine, comme l'a démontré Maurel (1), sont le type des poisons leucocytaires.

Ils paralysent les mouvements des globules blancs, les déforment et, à doses appropriées, en déterminent la mort.

En outre, la quinine possède une action chimiotactique négative et arrête la diapédèse des globules blancs.

Dans ses études classiques sur l'étiologie du tétanos, Vincent (2) s'est servi de sels de quinine pour produire dans le tissu sous-cutané des cobayes des foyers nécrotiques dans lesquels les spores tétaniques, injectées à distance, s'arrêtent et germent en produisant le tétanos.

Dans mes expériences, j'ai usé d'une solution aqueuse de bromhydrate de quinine à 5 p. 100, tenue en dissolution à l'étuve. Cette concentration est absolument indifférente pour les spores charbonneuses.

Les lapins de poids moyen en tolèrent impunément 2 cent. cubes projetés dans les poumons; 0 c. c. 5 injectés dans le rein, le foie et dans l'épaisseur des parois intestinales; 0 c. c. 3 dans la rate.

Si aussitôt après la projection pulmonaire de la dose sub-mortelle de spores, on projette à travers les fosses nasales la dose sus-indiquée (2 cent. cubes) de bromhydrate de quinine, les animaux meurent toujours de charbon après trois à quatre jours.

A l'autopsie, on constate une pleuro-pneumonie charbonneuse typique, précisément comme après les injections arsenicales. Les poumons sont trouvés souvent presque complètement hépatisés, fragiles et d'aspect gélatineux très caractéristique. Les cavités pleurales sont pleines d'un exsudat séreux; il y a de l'œdème dans le médiastin, de l'hydropéricarde, etc.

D'autres fois, on note également une entérite très prononcée.

Le charbon peut aussi être déchainé si la projection pulmo-

(1) Hypoleucocytose quinique. *C. R. de la Soc. de Biologie*, 55, 1903, p. 367.

(2) Tétanos et quinine. *Ces Annales*, 1904, p. 748.

naire de quinine s'effectue quelques jours après celle des spores. Par deux fois je l'ai produite en projetant la quinine cinq jours après les spores.

Même quand l'injection de quinine est faite dans la rate vingt-quatre heures, quarante-huit heures et aussi trois jours après la projection des spores dans les poumons, on provoque toujours la mort par charbon. L'injection après vingt-quatre heures est à préférer parce que la plus sûre.

La mort arrive dans un temps assez variable : après vingt-quatre heures, après quarante-huit heures, trois jours et parfois même après six jours.

Il est bien rare que les animaux survivent. Mais les injections de quinine faites après le quatrième jour restent la plupart des fois sans effet. Ceci indique que les spores transportées des poumons ne s'arrêtent pas ou ne survivent pas dans le parenchyme splénique au delà de trois jours.

Les caractéristiques anatomiques sont celles d'une banale septicémie charbonneuse : aucun œdème interne, rate augmentée et poumons d'aspect normal.

Mais le tableau bactériologique n'est pas toujours pur. Souvent dans ces cas, comme dans ceux de pneumonie charbonneuse, entre en scène le colibacille qui se retrouve abondamment disséminé dans le sang et les organes, en même temps que les bactéridies. Dans la pneumonie charbonneuse, on isole parfois comme microbe de sortie le pneumocoque.

Les injections de quinine dans le foie offrent moins de probabilité de surprendre les spores et de déchaîner le charbon. Mais même dans cet organe, les spores s'arrêtent sans nul doute en certaine quantité, car les injections de quinine sont souvent suivies de septicémie charbonneuse.

Dans un cas, celle-ci se déclina et tua d'une façon presque foudroyante, en dix-huit heures, l'animal qui avait reçu les spores charbonneuses dans les poumons trois jours auparavant.

A l'autopsie, on trouvait dans le foie, outre des bactéridies, des colibacilles.

Sur cinq lapins porteurs de spores, injectés de quinine dans un rein, j'obtins seulement dans deux cas un résultat positif, c'est-à-dire la septicémie charbonneuse. Dans un cas, la mort

se produisit après six jours et les bactériidies, mêlées à des tétragènes, furent isolées seulement du rein qui avait reçu l'injection de quinine.

Ceci confirme les résultats de recherches bactériologiques préliminaires : le rein n'est pas un organe où les spores charbonneuses projetées dans les poumons sont transportées de préférence.

J'ai voulu aussi pratiquer des injections de quinine dans l'épaisseur de l'iléon, portion du canal digestif au travers de laquelle, suivant mes expériences précédentes (1), s'effectuerait d'une façon quasi élective l'excrétion intestinale des microbes. J'ai pensé qu'une bonne partie des spores charbonneuses, au moins celles qui ne sont pas digérées par les phagocytes, s'étant réfugiés dans certains organes, devaient tôt ou tard s'éliminer de l'organisme par l'émonctoire intestinal.

Mes prévisions ne furent pas déçues.

En injectant 0 c. c. 4 à 0 c. c. 5 de la solution de bromhydrate de quinine dans l'épaisseur de l'iléon, à la hauteur de la dernière plaque de Peyer, qui se trouve au voisinage de la valvule iléo-cæcale, tôt ou tard, après quarante-huit heures comme après six jours, chez des lapins qui ont reçu des spores dans les poumons, se déchaîne une septicémie charbonneuse.

Même dans ces cas, à l'autopsie, les lésions sont tout à fait banales. La plaque de Peyer qui a reçu l'injection de quinine ne présente aucun signe particulier. On constate seulement, dans les cultures, que le contenu intestinal correspondant à l'iléon est riche en bactériidies, plus que tout autre portion de l'intestin. Dans un cas, les bactériidies par rapport aux colibacilles — qui sont toujours en grande abondance dans le contenu de l'iléon — se trouvaient dans la proportion de 43 p. 100.

Ceci confirme la notion de la fonction excrétoire exercée par l'intestin vis-à-vis des spores charbonneuses.

L'injection de quinine dans l'épaisseur de la paroi intestinale, à travers laquelle le phagocyte chargé de sa spore va se préci-

(1) Voies de pénétration et de sortie des vibrions cholériques. *Ces Annales*, 1923, p. 364.

piter dans le contenu intestinal, agit en empêchant leur passage, libère ainsi la spore et lui permet de germer.

Et c'est certainement pour ce motif que, dans certains cas, la septicémie charbonneuse se déchaîne d'ordinaire avec quelque retard et irrégulièrement.

EXPÉRIENCES AVEC L'ACIDE LACTIQUE.

Il a déjà été employé par Vaillard et Vincent (1), par Vaillard et Rouget (2) et par Tarozi (3) pour faire germer, dans les tissus des animaux porteurs, les spores tétaniques atoxiques.

L'injection, dans les tissus, de petites doses de solution à 5 p. 100 d'acide lactique produit localement une nécrobiose cellulaire, avant que l'acide lactique ait pu être neutralisé et qu'il se soit formé un lactate indifférent. On a donc, dans la zone injectée, une grande destruction de leucocytes avec, en même temps, libération des spores qui y sont éventuellement contenues.

En outre, l'acide lactique, ayant une action chimiotactique négative, empêche localement toute intervention phagocytaire ultérieure.

Les lapins de poids moyen (1 kilogr. 500 à 1 kilogr. 700) supportent sans inconvénient l'injection, dans la rate ou sous la peau, de 1 cent. cube de solution d'acide lactique à 5 p. 100.

Si l'injection est faite dans la rate vingt-quatre heures après la projection pulmonaire des spores charbonneuses, l'animal meurt du charbon deux à quatre jours après, présentant le tableau habituel de la septicémie, sans aucun signe de réaction au niveau de la plaie abdominale. Souvent on trouve, dans ces cas aussi, comme microbe de sortie, diffusé dans le sang et les organes, le colibacille.

Même quand l'injection d'acide lactique, à la même dose de 1 cent. cube, est pratiquée dans un point quelconque du tissu sous-cutané des lapins porteurs de spores charbonneuses, le charbon éclate. Mais, généralement, celui-ci tue les animaux

(1) *Loc. cit.*

(2) *Loc. cit.*

(3) Ueber das Latentleben der Tetanussporen im tierischen Organismus. *Central. f. Bakter.*, 40, 1906, p. 305 et 451.

assez tard : entre le septième et le onzième jour. Dans la région injectée avec de l'acide lactique, on rencontre presque toujours un peu d'infiltration œdémateuse très riche en bactériidies. On reproduit de cette façon, dans ces cas, la belle et originale expérience imaginée par Vincent (1), pour démontrer l'influence exercée à distance par les sels de quinine sur l'infection tétanique.

Vincent, après avoir injecté sous la peau des cobayes, au flanc droit, les spores tétaniques atoxiques, et au flanc gauche les sels de quinine, observe l'apparition du tétanos après trois à six jours. Mais les bacilles tétaniques ne se sont pas développés là où furent injectées les spores, mais au contraire dans le foyer d'injection des sels de quinine.

Évidemment, aussi bien dans l'expérience de Vincent que dans la mienne, l'apparition de l'infection est due à un phénomène identique. Les deux expériences se superposent et s'expliquent de la même façon. Le foyer nécrobiotique local produit indubitablement des substances toxiques par altération du métabolisme. Celles-ci attirent les leucocytes, parmi lesquels, tôt ou tard, arrive dans le foyer la cellule migratrice portant quelque spore phagocytée. Mais, comme on sait, les poisons nécrobiotiques, après les avoir attirés, tuent souvent les leucocytes. Et c'est ainsi qu'est donnée à la spore la possibilité de germer et de proliférer à son aise.

Le retard notable avec lequel éclatent, dans ces cas, l'intoxication tétanique et l'infection charbonneuse est probablement dû à un pur hasard : peut-être aux lenteurs et aux longues pérégrinations de ce leucocyte sporifié destiné, à un certain moment, à circuler dans les parages du foyer de nécrobiose.

EXPÉRIENCES AVEC LE NUCLÉINATE DE SOUDE.

Il a été récemment reconnu comme un excellent mobilisateur des parasites de la malaria. Injecté dans les muscles, il provoque l'apparition dans la circulation de formes parasitaires, suivie le lendemain d'un accès fébrile paludéen caractéristique.

(1) *Loc. cit.*, p. 755.

On s'en sert donc pour le diagnostic de la malaria latente et pour sa guérison, étant donné les propriétés qu'il aurait, selon Gagliardi (1), d'exalter les pouvoirs défensifs naturels de l'organisme.

Je crois, plutôt, que le nucléinate de soude, tout comme l'hyposulfite de soude, le glucose, le lait, la peptone, etc., appartient à cette série de substances qui, injectées dans un organisme portant un foyer microbien, au lieu de provoquer avec le choc non spécifique une réaction de défense, comme on le croit généralement, produisent une perturbation de l'état général ou local. Celui-ci, à son tour, détermine l'écroulement de l'édifice biologique que Mandel (2) appelle « symbiose somato-parasitaire ». L'écroulement dû au choc ferait tomber la barrière élevée par l'organisme autour du foyer microbien, en détruisant l'équilibre que le même organisme a constitué dans des buts de défense mais qui, au lieu d'assurer une protection, devient un « asile » pour le microbe. Celui-ci serait alors mis en liberté, abandonné à lui-même et lancé de nouveau en circulation, aux prises directement avec les pouvoirs défensifs, peut-être plus aguerris, de l'organisme. Ceci expliquerait la mobilisation des parasites malariques qui, lancés de nouveau dans la circulation, peuvent être attaqués par la quinine. De même s'expliquerait la libération des spores charbonneuses déjà sequestrées par des leucocytes et, par conséquent, la possibilité de leur germination et de leur développement ultérieur.

De telles vues trouvent un appui dans ces expériences.

En effet, l'injection de 1 cent. cube d'une solution de nucléinate de soude à 5 p. 100 dans la rate ou dans le foie des lapins porteurs de spores agit comme l'arsénic et la quinine.

C'est-à-dire qu'elle déclenche une septicémie charbonneuse qui tue en deux à trois jours. A l'autopsie on trouve des bactéries dans le sang, généralement à l'état de culture pure, mais parfois avec présence du colibacille. Une fois, comme microbe de sortie, j'ai trouvé le pneumocoque.

(1) Brevi considerazioni sul problema della diagnosi della malaria latente. *Terapia*, Milano, n° 60, 1924, p. 178.

(2) *Les microbes pathogènes de l'organisme animal*. Paris, Masson, 1923, p. 64.

EXPÉRIENCES AVEC LE GLUCOSE, LA PEPTONE,
L'HYPÓSULFITE DE SOUDE, LE LAIT, LE SANG ET L'EAU DISTILLÉE

L'injection de toutes ces substances dans la rate de lapins porteurs de spores déchaîne, comme les substances indiquées plus haut, la septicémie charbonneuse. Elles agissent d'une façon un peu différente, mais produisent les mêmes effets.

Les solutions de glucose et de peptone à 20 p. 100 doivent s'injecter dans la rate à la dose de 0 c.c. 5; les solutions d'hyposulfite de soude à 10 p. 100, de même à la dose de 0 c.c. 5; le sang (citraté) à la dose de 1 cent. cube; le lait stérilisé à la dose de 0 c.c. 5 et l'eau distillée stérile à la dose de 2 cent. cubes.

Les solutions de glucose, de peptone et d'hyposulfite étant hypertoniques, en ne tenant pas compte du déchaînement possible d'un énigmatique choc local, agissent certainement sur les leucocytes grâce à leur action osmotique et la peptone comme toxique. Le sang citraté et le lait stérilisé agissent, de même, comme protéïdes déchainantes et comme éléments étrangers nuisibles pour les leucocytes.

Quant à l'eau distillée, elle agit certainement sur la rate comme liquide hypotonique, gonflant les globules blancs et, par là, amenant leur altération et même leur mort. Son action est cependant faible et lente comme celle du lait et de l'hyposulfite de soude. En effet, après l'injection de glucose, de peptone et de sang, la mort par charbon arrive généralement après trois à quatre jours. Au contraire, après l'injection de lait, d'hyposulfite et d'eau distillée la mort se produit plus tard: après six à sept jours. Il faut noter que l'eau distillée injectée dans la rate à la dose de 1 cent. cube reste sans effet, il faut en injecter au moins 2 cent. cubes.

Le tableau anatomique, dans tous ces cas, ne diffère pas du tableau habituel de la septicémie charbonneuse. J'ai toutefois observé qu'en général plus la septicémie se déchaîne tardivement, moins fréquemment on constate à l'autopsie l'augmentation caractéristique de la rate. Les poumons se montrent généralement d'aspect normal.

Dans un cas traité par l'hyposulfite, j'ai observé une pneu-

monie intéressant le lobe supérieur droit. Dans un autre cas de charbon provoqué par l'injection splénique de 2 cent. cubes d'eau distillée, j'ai trouvé un abondant exsudat séreux dans les cavités pleurales.

INJECTIONS INTRAVEINEUSES D'EAU DISTILLÉE ET DE SOLUTION PHYSIOLOGIQUE.

J'ai voulu voir aussi si, en injectant des liquides divers dans la circulation sanguine de façon à troubler la concentration moléculaire des éléments cellulaires et les rapports physico-chimiques de leurs colloïdes, on réussirait à produire la mort fonctionnelle des phagocytes sporifères et à déclencher le charbon.

Vincent (1) a depuis longtemps démontré que l'injection même de sérum artificiel, chez des cobayes porteurs de spores tétaniques, n'est pas toujours inoffensive. Parfois elle provoque l'apparition du tétanos.

Les résultats des expériences faites dans ce but ont donné des résultats pleinement concordants.

Les lapins du poids moyen de 1 kilogr. 800 supportent bien les injections intraveineuses de 70 cent. cubes d'eau distillée ou de 100 cent. cubes de solution physiologique, à condition que l'injection des liquides soit faite avec une certaine lenteur.

Chez les lapins porteurs de spores (et il faut entendre par là ceux qui ont reçu vingt-quatre heures auparavant, dans les poumons, la projection d'une dose submortelle de spores, c'est-à-dire 50.000 spores), l'introduction de la quantité sus-indiquée d'eau distillée ou de solution physiologique rend libres les spores et déclenche toujours la septicémie charbonneuse.

La mort des animaux se produit après trois à quatre jours, avec le tableau anatomique habituel.

Les cultures révèlent parfois la mobilisation concomitante du colibacille que l'on retrouve plus particulièrement dans le foie et la rate.

(1) Influence favorisante du chlorure de sodium sur certaines infections. *C. R. de la Soc. de Biol.*, 4 juin 1904, p. 924.

EXPÉRIENCES AVEC CULTURES MICROBIENNES VIVANTES
OU MORTES.

Puisque dans les divers cas de septicémie charbonneuse provoquée par les moyens ci-dessus décrits, le colibacille était entré en scène, j'ai pensé que l'intervention de ce microbe ne devait pas être toujours étrangère au début et à l'évolution du processus infectieux.

Après m'être assuré que la projection d'une culture de colibacilles, morts ou vivants, comme aussi l'injection dans la rate d'une anse de colibacilles vivants, étaient bien supportées par les lapins, je voulus éprouver aussi, de diverses façons, l'action de ces microbes chez les lapins porteurs de spores charbonneuses.

Les résultats de ces expériences furent, en général, les suivants : en projetant dans les poumons la dose submortelle de spores et en la faisant suivre, aussitôt après, d'une deuxième projection constituée par une culture entière de colibacilles vivants, la mort des animaux survient après six à neuf jours. A l'autopsie, on observe presque toujours, une entérite très marquée avec exsudat péritonéal hémorragique; la rate est flasque et peu augmentée; les poumons semblent sains. Les bactériidies peuvent être isolées en abondance du sang et des organes à l'état de pureté. Les colibacilles ont disparu.

Si vingt-quatre heures avant ou après la projection des spores dans les poumons, on injecte dans la rate une anse normale de colibacilles vivants, la septicémie charbonneuse se déchaîne également, tuant les animaux en cinq-six jours. Mais dans ces cas, à l'autopsie, en même temps que les bactériidies, j'ai trouvé aussi des colibacilles, spécialement dans le foie et dans la rate. Ici aussi on trouve presque toujours une entérite aiguë, beaucoup plus accentuée que celle, relativement légère, que l'on observe dans les cas ordinaires d'infection charbonneuse chez le lapin. Ces manifestations intestinales sont probablement aggravées par l'infection colibacillaire concomitante. On sait que les poisons colibacillaires exercent, par voie sanguine, une action élective spécifique sur la muqueuse intestinale.

Les cultures mortes aussi bien du colibacille que du *bac. prodigiosus*, projetées dans les poumons ou injectées dans la rate, sont restées, au contraire, sans effet. Il faut supposer que l'afflux leucocytaire, provoqué localement par les protéides bacillaires, favorise et active, au lieu de l'empêcher, l'œuvre des phagocytes et, par conséquent, la symbiose somato-parasitaire.

Gratia (1) a observé le même phénomène dans le tissu cellulaire sous-cutané. En déterminant localement un appel leucocytaire, il a observé une diminution de sensibilité de la partie malade envers l'infection charbonneuse.

EXPÉRIENCES AVEC LA CHALEUR.

Nous devons à Vincent (2) le premier et le plus important mémoire sur l'influence favorisante qu'exerce l'hyperthermie du corps, provoquée artificiellement, sur le développement du tétanos, chez les animaux porteurs de spores tétaniques.

Plus tard, Ruata (3) et Puntoni (4), eux aussi, ont démontré expérimentalement, dans mon laboratoire, que l'action de la chaleur, spécialement de la chaleur humide, rend les animaux plus réceptifs aux infections et à l'action pathogène des divers microbes à cause des graves perturbations cellulaires et humorales qui se produisent dans les organismes réchauffés.

Comme de l'ensemble des résultats de mes expériences, il apparaissait clairement que les spores charbonneuses, ayant pénétré dans l'organisme sans effraction, sont transportées dans les différents organes par les phagocytes et s'y comportent comme les spores atoxiques du tétanos chez les cobayes, j'ai voulu, ainsi que l'a déjà fait Vincent pour cette maladie, éprouver chez les lapins porteurs de spores du charbon, l'influence de la chaleur.

Vincent a démontré que l'élévation thermique, chez les animaux porteurs de spores tétaniques à l'état de vie latente, fait

(1) Phagocytose et immunité locale. *C. R. de la Soc. de Biol.*, **89**, 1923, p. 826.

(2) Contribution à l'étude du tétanos dit médical ou spontané. *Ces Annales*, 1904, p. 450.

(3) L'influenza del caldo umido sulle infezioni. *Bollettino delle Sc. mediche di Bologna*, 1909.

(4) La perturbazione della funzione cutanea come causa di lesioni gastro-intestinali. *Ibidem*, 1913.

déclater le tétanos, en accélère la marche quand il est déjà déclaré et favorise la généralisation du bacille tétanique.

Dans ce cas, les effets de l'hyperthermie se feraient sentir surtout sur les globules blancs du sang.

Quand la température des cobayes rejoint 42°5, on observe une hypoleucocytose due à une vraie leucolyse, qui atteint plus spécialement les cellules phagocytaires (polynucléaires et mononucléaires) qui retiennent prisonnières les spores tétaniques et les empêchent de germer. Devenues libres de cette façon, après la mort des cellules qui les séquestraient, les spores germent et déchaînent l'infection qui tue le cobaye.

Et ceci se produit aussi chez les lapins porteurs de spores charbonneuses.

Mais j'ai observé que les lapins supportent le séjour dans la chambre-étuve à 37° (où la tension de la vapeur est de 15,96 et l'humidité relative de 35) beaucoup moins facilement que les cobayes. Ceux-ci peuvent vivre dans ces conditions, impunément, pendant plusieurs jours de suite; les lapins au contraire n'y résistent pas longtemps. Les jeunes lapins d'environ 800 grammes y meurent toujours en trente-six à quarante-huit heures, de colibacillose.

Les lapins adultes de plus de 1 kilogr. 300 peuvent y résister pendant une dizaine de jours, même plus, sans souffrir. Mais ceci est l'exception. Le plus souvent les animaux meurent après trois-quatre jours. A l'autopsie, on observe des noyaux de pneumonie et d'œdème pulmonaire.

Le tableau bactériologique est toujours celui d'une colibacillose qui, sous l'influence de l'hyperthermie, s'est déclarée improvisément, tuant l'animal.

L'invasion colibacillaire menace en permanence les lapins maintenus plus de quarante-huit heures dans la chambre-étuve, même si elle est très spacieuse (21 mètres cubes) comme celle de l'Institut d'Hygiène de Rome.

En faisant ces expériences, il faut donc veiller continuellement sur les animaux. Un signe précurseur de grande souffrance présenté par l'animal dans la chambre-étuve consiste, plus encore que dans la température rectale élevée, en l'abondante salivation et les mucosités qui tombent de la bouche, baignant les poils du museau et du cou.

Après bon nombre d'essais sur des animaux neufs, j'ai fini par m'arrêter à ce procédé qui m'est apparu préférable.

Après projection de spores dans les poumons du lapin, je plaçais aussitôt l'animal dans la chambre-étuve en l'y maintenant seulement vingt-quatre heures. L'animal retiré de l'étuve, on observe que sa température rectale est montée dans l'intervalle d'au moins 2° : par exemple, de 38°5-39°5 à 41°-41°5.

Le jour suivant, la température est toujours redevenue normale. On replace alors, de nouveau, le lapin dans l'étuve pendant quatre à six heures encore. Après cela, on le retire pour recommencer le même traitement le jour suivant et ainsi de suite.

En général, après quatre, cinq et même huit jours de ces brusques variations thermiques, que les lapins témoins supportent parfaitement, les porteurs de spores finissent par mourir de charbon, présentant à l'autopsie : congestion pulmonaire, noyaux de broncho-pneumonie et grosse rate. Parfois on constate aussi une entérite marquée, avec contenu intestinal diarrhéique, hématique ou même hémorragique.

Le séjour, dans un milieu réchauffé, se répercute au maximum sur l'appareil digestif. La muqueuse intestinale entre en hyperfonction, sécrète une abondante quantité de mucus, perd son épithélium de revêtement, se congestionne, devient œdémateuse et finit par s'altérer complètement, tandis que le colibacille se multiplie énormément tout le long du canal digestif et tend naturellement à envahir l'organisme.

On peut aussi placer le lapin dans la chambre-étuve pendant vingt-quatre à trente-six heures, avant de le soumettre à la projection des spores dans les poumons.

Ceci fait, on le place à nouveau dans l'étuve pour plusieurs heures, le retirant la nuit, pour l'y enfermer le lendemain, et ainsi de suite, en surveillant toujours les conditions de l'animal.

Avec ce procédé aussi, on déchaîne plus ou moins vite, chez les lapins porteurs de spores, une septicémie charbonneuse, accompagnée des altérations anatomiques habituelles, particulièrement touchant l'appareil digestif.

Je crois, même, du fait que la mort survient presque tou-

jours après plusieurs jours de traitement, que la libération des spores et leur développement ultérieur commencent vraiment au niveau de ces parois intestinales, déjà profondément désorganisées par l'hyperthermie, et au moment où les phagocytes sporifères y arrivent, tôt ou tard, *a tergo*.

Dans ces cas, l'examen microscopique à l'état frais, et l'étude des coupes d'intestin fixées dans l'alcool et colorées au Gram et au picrocarmin, démontrent d'une façon évidente l'extrême gravité des lésions souffertes par l'organe. Le contenu intestinal est constitué par un liquide diarrhéique, d'aspect hémorragique, dans lequel se voient des fragments de muqueuse sphacélée, des globules rouges et de très nombreuses bactéridies.

Les coupes *in toto* mettent en évidence la destruction complète de la muqueuse. Sur la limite du tissu conjonctif sous-muqueux, devenu œdémateux, reposent quelques culs-de-sac glandulaires encore identifiables. Toutes les villosités sont sphacélées. Dans la figure 1 de la 1^{re} planche, se voient encore deux villosités qui ont résisté, monstrueusement gonflées et déformées, au milieu de fragments et de débris méconnaissables de villosités détruites. La violence de la réaction intestinale a bouleversé la muqueuse, qui est atteinte de nécrose dans toute son étendue. On doit noter cependant l'absence complète de toute réaction leucocytaire.

Les phénomènes d'irritation, de congestion et de ruptures vasculaires, qui caractérisent ces entérites hémorragiques charbonneuses, ne sont pas accompagnées d'infiltration embryonnaire intramuqueuse ou périvasculaire, comme celles qu'on observe souvent dans les nécroses hémorragiques de l'intestin. Les bactéridies se voient dans l'intérieur des villosités et disséminées en grande quantité, isolées ou en groupes, entre tous les morceaux et résidus de la muqueuse sphacélée qui remplissent la lumière intestinale.

Les cultures, à l'autopsie, révèlent en effet une grande quantité de bactéridies dans tous les organes et dans le contenu intestinal. Mais rarement l'infection générale est due à la seule bactéridie. Souvent, on constate l'invasion du colibacille, spécialement dans la rate, le foie et les poumons. Dans quelques cas, le microbe de sortie a été le pneumocoque.

INFLUENCE DU RÉGIME ALIMENTAIRE.

Ceci est la dernière série des expériences que j'ai désiré réaliser, dans le but de démontrer la multiplicité des causes qui peuvent déterminer l'explosion du charbon « interne » ou « spontané » chez les animaux porteurs de spores.

Parmi les régimes alimentaires, celui qui, dans des circonstances déterminées, m'a paru plus facilement en mesure de favoriser, dans l'organisme porteur, la germination des spores charbonneuses est le régime pauvre en eau.

Tout d'abord, il est de notion commune que les épizooties charbonneuses sont plus fréquentes en été et frappent plus spécialement les animaux abandonnés à eux-mêmes, en pâturage libre.

G. Frank (1) dit que dans la province de Posen, le charbon frappe cruellement les brebis en pâturage, de juin à septembre, c'est-à-dire dans la période qui comprend la saison de plus grande sécheresse.

On sait que dans certains étés très secs, la mortalité du bétail qui manque de fourrages frais et d'eau pour s'abreuver atteint des proportions parfois alarmantes. A. Weichselbaum (2) écrit que le charbon vient avec le printemps et s'en va avec l'automne. Et il met cela en relations avec les effets de la stabulation et du pâturage.

Le bétail soigné et alimenté dans les étables court moins de risques de mourir du charbon.

Il y a des pays à charbon » comme il y a des « années à charbon », disent Nocard et Leclainche (3).

D'autre part, après les études de Holst et de Frölich (4), et surtout après celles de Baglioni (5), l'on sait que les herbivores de laboratoire, alimentés exclusivement avec des cérales sèches ou avec du pain, sont sujets à des troubles très graves

(1) Ueber Milzbrand. *Zeitsch. für Hygiene*, 1, 1886, p. 364.

(2) Weyl's *Handbuch der Hygiene*, 9, 1891, p. 552.

(3) *Ibid.*, p. 313.

(4) Ueber experimentellen Skorbut. Ein Beitrag zur Lehre von dem Einfluss einer einseitigen Ernährung. *Zeitsch. für Hygiene*, 77, 1912, p. 1.

(5) Ricerche sugli effetti dell'alimentazione maidica. *Resoc. della R. Accad. dei Lincei*, 24, 1915, p. 254.

du métabolisme et à de profondes perturbations fonctionnelles semblables à ceux que l'on observe dans l'inanition chronique partielle ou dans le scorbut humain : fermentations acides anormales du cæcum, diminution de la sécrétion rénale, urine faiblement alcaline ou même acide, hémorragies diverses, acidose, etc.

Toutes ces causes, comme la privation d'eau dans l'alimentation, étudiée par Pernice et Alessi (1), ne peuvent que prédisposer l'organisme aux infections. Ces mêmes auteurs, en supprimant l'eau de boisson, obtinrent l'évolution du charbon chez des animaux naturellement réfractaires comme le chien, le poulet, le pigeon et les grenouilles.

J'ai étudié les effets de l'alimentation pauvre en eau, en soumettant, à trois reprises successives, des lots de lapins à un régime exclusif de pain sec et de son.

Dans chaque série d'expériences, aux lapins d'un premier lot était faite une projection dans les poumons de l'habituelle quantité submortelle de spores. Ceux d'un second lot servaient de témoins.

Les animaux étaient pesés chaque jour, les urines étaient mesurées et leur réaction éprouvée avec le papier au tournesol.

Les lapins neufs, soumis au régime sec, même en plein été (juillet-septembre), résistent généralement assez longtemps, bien que commençant à diminuer de poids, 30 à 50 grammes par jour, depuis le début du nouveau régime. L'émission journalière des urines diminue avec une rapidité progressive. Après six à sept jours, elle est déjà réduite à une quantité insignifiante : de 4 à 5 cent. cubes à quelques gouttes par jour. Quand les animaux ont perdu environ 40 p. 100 de leur poids initial, l'amaigrissement procède avec une lenteur toujours plus grande. Il y a de vrais arrêts et, de temps en temps, le poids reste pendant quelques jours stationnaire. Mais en même temps l'émission des urines se suspend complètement, même pendant plusieurs jours. Malgré cela, la réaction des urines, même après un amaigrissement poussé jusqu'à 60 p. 100, se main-

(1) Sulla disposizione alle malattie infettive negli animali privati dell'acqua *La Riforma medica*, 3, 1891, p. 830.

tient généralement alcaline, parfois elle est amphotère, très rarement elle devient acide.

La mort survient au plus tard entre le vingt-cinquième et le quarante-cinquième jour à partir du début du régime sec. Une seule fois, sur les 8 lapins témoins la mort se produit après neuf jours. A l'autopsie, aussi bien le sang que les organes se montrent stériles.

Quand, au contraire, les lapins que l'on soumet au régime sec sont déjà porteurs de spores charbonneuses insufflées par voie nasale, ils meurent de charbon, presque toujours en peu de temps.

Sur 13 animaux soumis auxdites expériences : 9 moururent au cinquième jour, un au quatrième, un au sixième, un au septième, un dernier survécut longtemps. Il mourut lui aussi après vingt-huit jours dans un état de cachexie avancée. Le poids du corps était tombé de 1 kilogr. 980 à 0 kilogr. 820. Mais les cultures faites à l'autopsie demeurèrent stériles. Dans ce cas la mort survint par cachexie.

C'est également de charbon « interne », c'est-à-dire sans œdème, que mourut un lapin témoin, cinq jours après qu'il eut été soumis au régime sec. Évidemment l'animal s'était contagionné avec quelques spores, à peine enfermé dans sa cage. La spore absorbée et déjà nichée dans quelque organe interne, avait germé au moment propice, comme d'habitude, à la suite des troubles généraux provoqués par le régime sec.

On ne peut donc nier que le régime alimentaire sec favorise, chez les animaux porteurs de spores, l'explosion de la septicémie charbonneuse.

VII. — Comment se produisent les lésions intestinales dans le charbon « interne ».

De l'ensemble de ces expériences, on est donc autorisé à exclure l'idée que, dans le charbon dit « interne » ou « spontané » ou aussi « mycose charbonneuse intestinale », les graves altérations qui, à l'autopsie, se rencontrent le long du canal digestif, puissent être, comme on l'a admis jusqu'ici, de nature entérogène.

Pour les raisons déjà exposées, ces lésions ne peuvent être considérées comme dues à l'action directe des bactériidies germées de spores, dans le contenu intestinal, et développées au contact de la muqueuse.

Ceci posé, il resterait à se demander pourquoi, dans le charbon de l'homme et des animaux, on rencontre si souvent des lésions très graves le long du tube digestif.

Mais depuis mes publications sur la nature et la pathogénie des réactions et des lésions intestinales au cours d'autres processus infectieux, considérées dans le passé comme de nature entérogène (fièvre typhoïde, fièvre jaune, choléra), la genèse de l'entérite charbonneuse paraît plus compréhensible.

Evidemment, l'entérite charbonneuse elle-même, la prétendue « mycose charbonneuse intestinale », ne peut être que de nature hématogène, comme l'entérite typhique, celle de la fièvre jaune et celle du choléra.

Outre les constatations mises en lumière par mes recherches actuelles, les très nombreuses autopsies d'animaux morts de charbon, pratiquées dans ces quatre années d'expériences, m'en ont donné une claire et ferme impression.

Je me suis aperçu, surtout, que les caractères des lésions rencontrées à l'autopsie sur la muqueuse intestinale, même dans le charbon inoculé aux animaux par voie sous-cutanée, varient suivant la plus ou moins grande réceptivité de l'espèce employée.

Les lésions trouvées dans l'intestin sont plus marquées et plus graves chez les animaux les moins sensibles au charbon. Cette observation a une portée fondamentale.

Dans son travail sur l'étiologie du charbon, Koch souligne avoir été très impressionné par le fait, que chez les bovidés morts de charbon, alors que les nodules lymphatiques et les villosités intestinales sont très riches en bactéries, c'est « seulement après de patientes recherches que l'on peut trouver quelques bâtonnets dans le sang (1) ». Ce furent probablement ces constatations et d'autres semblables, faites du reste par plusieurs auteurs, qui induisirent Koch à soutenir sa doctrine bien connue sur l'entérogénèse du charbon intestinal.

(1) *Loc. cit.* p. 61.

Effectivement, chez les grands animaux, spécialement chez les solipèdes et les bovidés, le charbon est, comme chez l'homme, presque toujours accompagné d'une violente réaction intestinale, parfois d'une véritable et complète destruction de la muqueuse, de tuméfactions lymphatiques, d'ecchymoses, d'ulcérations hémorragiques, etc. Mais Koch lui-même reconnaît que chez les animaux plus particulièrement sensibles, comme les moutons, bien que selon sa façon de voir, ceux-ci se contagionnent par l'intestin, les localisations intestinales rencontrées à l'autopsie sont moins accentuées et souvent complètement absentes.

Or, au début de mes expériences, j'avais pensé que la gravité des réactions et des lésions intestinales aurait pu dépendre, chez les animaux très sensibles, de la plus grande durée du processus morbide.

On sait en effet que si, chez les chevaux et les bovidés, la maladie peut se prolonger pendant cinq à six jours après l'apparition des premières manifestations, chez les ovins, au contraire, la mort survient six à onze heures après les premiers troubles (1).

J'essayai donc d'inoculer à des animaux de laboratoire des virus moins actifs et jusqu'à des vaccins pastoriens mis obligeamment à ma disposition par mon ami le prof. Lanfranchi, de Bologne. Mais j'observai, tout de suite, que plus se prolongeait la durée de l'infection charbonneuse — du moins chez les lapins, les cobayes et les rats — moins étaient accentuées et significatives les lésions rencontrées ensuite à l'autopsie.

Dans le charbon à évolution lente, souvent on n'observe pas la tuméfaction caractéristique de la rate! Dans ces cas, l'habituelle hyperémie de la muqueuse intestinale est assez faible ou totalement absente. On observe, en somme, le même phénomène que j'ai décrit dans l'épithalaxie cholérique : dans les cas à évolution rapide, la réaction intestinale est impétueuse et violente; dans ceux à évolution prolongée, elle est plus atténuée ou absente.

J'ai cherché à augmenter la résistance des animaux — cobayes et rats albinos — en leur injectant une ou deux fois

(1) NOCARD et LECLAINCHE. *Op. cit.*, p. 319.

1 cent. cube du vaccin I, et en inoculant plus tard, à un mois de distance, le virus charbonneux. Mais, même dans ces cas — la mort a été observée parfois même après dix-sept jours — je n'ai pas obtenu de réactions et de lésions intestinales plus marquées que celles qu'on voit quelquefois sur les animaux neufs.

Car aussi, chez les petits animaux de laboratoire, s'observe, tôt ou tard, le cas très démonstratif et le tableau anatomique qui met sous les yeux la violente entérite hémorragique accompagnée de destruction de la muqueuse intestinale aussi grave que celle décrite dans la « mycose intestinale charbonneuse ».

Les animaux qui présentent toujours, au plus haut degré, à l'autopsie, ces graves lésions intestinales sont les jeunes chiens. Les chiens adultes, comme l'on sait, sont réfractaires au charbon.

J'ai inoculé, sous la peau, le virus charbonneux à plusieurs jeunes chiens, nés au laboratoire, âgés de vingt jours à deux mois. Ces animaux moururent du charbon entre trois à six jours, présentant toujours à l'autopsie une entérite hémorragique des plus graves.

La figure 2 de la planche I montre la gravité des lésions de la muqueuse de l'intestin grêle, dans un des cas les plus typiques. La muqueuse apparaissait, à l'autopsie, énormément congestionnée et couleur lie de vin. Le contenu intestinal était nettement hémorragique. Les préparations microscopiques montraient une destruction presque totale des villosités. Celles-ci étaient envahies par des bactériidies, s'étant frayé un chemin par voie sanguine. Il s'ensuit une altération dégénérative du tissu conjonctif réticulé du stroma des villosités. Celles-ci sont gonflées, œdémateuses, elles ont perdu leur épithélium et ont subi un sphacèle total ou presque, perdant aussi en grande partie leur structure anatomique. La lumière intestinale apparaît en effet remplie de débris de villosités et de dépôts muqueux emprisonnant des bactériidies.

Les culs-de-sac des glandes de Lieberkühn, qui ne contiennent pas de bactériidies, sont au contraire bien conservés. La couche conjonctive située entre la *muscularis submucosa* et la *muscularis circularis* est gonflée, œdémateuse et fenêtrée.

On peut dire que toute la muqueuse est en plein sphacèle.

Il est logique de supposer que, si l'animal eût survécu encore quelques jours, les érosions eussent été indubitablement plus étendues et plus profondes et la muqueuse intestinale eût présenté les signes de l'entérite hémorragique nécrosante.

Il est en effet bien connu que dans certaines septicémies humaines, accompagnées de réactions intestinales aiguës, comme par exemple dans les infections par le *b. enteritidis* de *Gaertner* ou celles du type *Aertrycke*, les ulcérations de la muqueuse intestinale ne s'observent que lorsque la mort survient à un stade avancé de la maladie : au cinquième, au dixième, et même au trentième jour. Quand l'évolution morbide a été rapide, on constate seulement une congestion intense avec ecchymoses et suffusions sanguines.

Après les jeunes chiens, ce sont les rats albinos qui, inoculés par voie sous-cutanée, présentent presque toujours, à l'autopsie, de la gastro-entérite hémorragique très grave et caractéristique.

On sait que les rats albinos jouissent, envers le charbon, d'un certain degré d'immunité naturelle. Mais inoculés avec 1 cent. cube de culture en bouillon très virulente, ils meurent presque toujours après quatre à cinq jours, présentant à l'autopsie un tableau intestinal aussi impressionnant que celui observé sur les jeunes chiens. Dans certains cas, j'ai trouvé le contenu de l'estomac de couleur noire, et celui de l'intestin sous forme d'une purée sanguinolente, brunâtre.

L'acidité de la bouillie gastrique, calculée en acide lactique, était réduite à 0,30 p. 100.

Comment peut-on observer dans la septicémie charbonneuse une lésion aussi grave de la muqueuse gastrique, c'est ce que démontrent nettement les figures 3 et 4 qui représentent, respectivement, la muqueuse gastrique d'un lapin adulte et d'un jeune lapin (de 130 grammes) morts tous deux quarante-huit heures après l'injection sous-cutanée de spores charbonneuses.

La muqueuse digestive des lapins réagit toujours assez faiblement à l'action du virus charbonneux. C'est pourquoi, chez les lapins morts de charbon, les lésions intestinales sont géné-

ralement assez légères. Le plus souvent, elles se limitent à une simple hyperémie. Mais dans la figure 3 on voit très clairement la façon dont les bactériidies s'insinuent dans les parois de la muqueuse gastrique et s'éliminent par son bord libre, à la faveur de la rupture des capillaires marginaux. Les bactériidies arrivent par les vaisseaux, qui, comme l'on sait, proviennent du péritoine, et à travers la tunique musculieuse se dirigent et se diffusent vers la sous-muqueuse pour envahir et emprisonner, dans leurs innombrables arborisations de capillaires interlobulaires, la palissade des glandes pepto-gastriques.

En effet, dans les espaces interglandulaires, on observe de longues files de bactériidies, orientées dans le sens de la direction des glandes elles-mêmes. Elles sont particulièrement abondantes, disposées de la façon la plus irrégulière, dans les bourgeons intertubulaires corolliformes qui se trouvent à l'ouverture des glandes.

La lésion la plus évidente de la muqueuse consiste dans la destruction de tout son revêtement épithélial. Il n'y a plus trace de cellules muqueuses, ni à la surface, ni à l'entrée des glandes stomacales. L'amas des bactériidies se montre vraiment impressionnant dans le système des anses capillaires constituant les bourgeons situés sur le bord libre de la muqueuse.

Leur présence altère, gonfle les éléments anatomiques et produit, comme dans toute gastrite, la transformation muqueuse des éléments cellulaires; ceux-ci dégénèrent, meurent, et sont immédiatement digérés par le suc gastrique.

La disparition de l'épithélium muqueux et les érosions superficielles qui en dérivent, et qui intéressent aussi les cryptes des glandes à pepsine, facilitent les hémorragies et les extravasations sanguines de la part des capillaires marginaux qui, dans le charbon, sont toujours très dilatés et enclins à la rupture. C'est ainsi que des grandes masses de bactériidies sont déversées dans la cavité gastrique, où elles sont immédiatement tuées par l'action bactéricide du suc gastrique et ensuite digérées.

La lésion apparaît encore plus nette si on examine la muqueuse gastrique (fig. 4, pl. II) d'un petit lapin mort de septicémie charbonneuse. La fragilité particulière des tissus des

lapins nouveau-nés facilite les désordres anatomiques causés par la présence des bactériidies.

Dans la figure 4 on voit facilement que la muqueuse gastrique a été presque entièrement détruite. La palissade glandulaire a disparu.

Au contact immédiat de la musculaire sous-muqueuse, on observe encore des blocs de cellules à pepsine qui ne rappellent plus la disposition normale des culs-de-sac glandulaires. Ceux-ci apparaissent, en grande partie, rongés, démembrés et détruits. On peut dire que la muqueuse gastrique n'existe plus.

Les restes du réticulum capillaire interlobulaire sont infiltrés de bactériidies dont l'action atteint évidemment, dans un premier temps, les cellules muqueuses, puis les cellules à pepsine. Le suc gastrique, qui chez les jeunes lapins est extrêmement actif, attaque aussitôt et digère les éléments anatomiques déjà privés de leur résistance vitale, causant à la muqueuse de profondes érosions.

Il faut supposer que, dans ces circonstances, une quantité énorme de bactériidies se déverse dans la cavité gastrique où tour à tour, cependant, elles sont d'abord tuées, ensuite digérées.

En effet dans les cas même de très larges érosions de la muqueuse et d'abondantes émissions de bactériidies, les cultures du contenu gastrique ne révèlent la présence d'aucun germe charbonneux.

Mais ce sont les cobayes qui, parmi les petits animaux de laboratoire, présentent souvent, à l'autopsie, de très graves lésions du tube digestif. Celles-ci sont, en certains cas, en tout et absolument comparables à celles que les auteurs ont décrites, chez l'homme et les grands herbivores, comme dues à une vraie mycose intestinale.

Avec une grande fréquence, les cobayes morts de charbon deux à trois jours après l'inoculation sous-cutanée de virus présentent une entérite plus ou moins accentuée, parfois même hémorragique, avec présence de bactériidies dans le contenu intestinal.

Les coupes de la muqueuse intestinale montrent, dans ces cas, comment se produisent les altérations anatomiques, les hémorragies et les émissions de bactériidies.

La figure 5 représente des villosités du segment duodénal d'un cobaye, mort trente-six heures après l'inoculation sous-cutanée de virus.

Les deux villosités latérales présentent leur aspect à peu près normal. Mais la villosité centrale, dans l'intérieur de laquelle se sont déjà insinuées et multipliées les bactériidies, arrivées jusque-là par les capillaires ascendants, présente les signes de sphacèle au début.

Le tissu conjonctif constituant le stroma de la villosité se montre œdémateux, hydropique et dans quelques points raréfié et désagrégé.

L'extrémité libre a déjà perdu son épithélium de revêtement et présente des signes manifestes de nécrose. Au voisinage de la zone dégénérée, les noyaux des cellules cylindriques se montrent fragmentés, atteint de picnose et de chromatolyse.

Le processus nécrotique commençant est, évidemment, causé par la présence des bactériidies, dont les poisons altèrent le métabolisme et la nutrition du protoplasma cellulaire. Celui-ci dégénère, perd sa vitalité et est immédiatement digéré par le suc intestinal. Ainsi s'ouvre la première brèche. La cause des motifs de dégénération continuant d'exister par le fait de la multiplication des bactériidies, on arrive peu à peu à la mort et à la destruction de zones étendues des villosités intestinales.

Chez les cobayes on a, de même, l'occasion d'observer souvent de très graves et intéressantes altérations des plaques de Peyer.

A l'autopsie de cobayes morts de charbon inoculé par voie sous-cutanée, j'ai trouvé, parfois, des plaques de Peyer énormément tuméfiées, ulcérées et sanguinolentes. Leur étude histologique a été très intéressante et m'a servi de guide dans l'interprétation des processus intestinaux produits par les bactériidies arrivées jusqu'aux organes lymphatiques de l'intestin, sans aucun doute, *a tergo*. La figure 6 de la planche II reproduit une préparation dessinée à un faible grossissement, concernant une plaque de Peyer d'un cobaye mort quarante-huit heures après inoculation sous-cutanée de virus charbonneux. L'anse intestinale correspondant à cette plaque lymphatique, très tuméfiée et congestionnée, était diarrhéique et distendue. Dans cette préparation, on remarque de suite la provenance

vasculaire de bactéridies qui arrivent par le réticulum arrosant le tissu conjonctif sous-nodulaire. Les bactéridies, à peine visibles sur la préparation par leur couleur violacée, s'irradient depuis les plus gros capillaires et s'insinuent dans les mailles du fin tissu réticulé du nodule. Elles se multiplient le long du réticulum vasculaire très serré qui tire son origine de ces capillaires et qui s'irradie dans tout le follicule.

On voit très bien que les bactéridies se concentrent et deviennent plus nombreuses vers le sommet du nodule lymphatique, où, comme l'on sait, convergent les branches du réseau vasculaire du follicule. En effet, le bord libre de la plaque de Peyer qui a complètement perdu son revêtement épithélial et est en partie nécrosé et corrodé, se montre, spécialement sur quelques points, énormément infiltré de bactéridies qui constituent un vrai feutrage. Celui-ci est particulièrement dense et bien marqué, même par l'intensité de la coloration, à la hauteur des têtes des nodules lymphatiques, lesquels, ayant perdu leurs calices folliculaires, sont demeurés dénudés et plus ou moins détruits. Toutes ces particularités sont mieux visibles dans la figure 7, qui représente la partie centrale de la même plaque de Peyer, vue à un plus fort grossissement. On y observe mieux la provenance vasculaire des bactéridies qui, s'insinuant à travers les mailles du réticulum vasculaire du follicule, diffusent et s'accumulent sur le bord libre du sommet de celui-ci. Le réticulum propre du nodule lymphoïde montre partout les signes d'extravasations sanguines qui ont facilité la multiplication et la diffusion des bactéridies. La tête du nodule, où les bactéridies se montrent comme une haie serrée, en quantité prodigieuse, est nécrosée, infiltrée de sang et profondément corrodée. Les veinules du follicule sont très congestionnées.

La figure 8 reproduit la plaque de Peyer d'un autre cobaye, mort de charbon deux jours après l'inoculation sous-cutanée du virus.

Ici le sommet du follicule, où les bactéridies se voient amassées en grande quantité, apparaît encore plus rongé et ulcéré. Il est infiltré de sang provenant de la rupture et de l'érosion des bourgeons capillaires terminaux.

Les extravasations sanguines et l'action propre des bactéridies qui ont déterminé, çà et là, la dislocation et le désordre des

éléments lymphoïdes, occupant les mailles du réticulum du nodule, ont produit leur plus grande dévastation à la hauteur du sommet du follicule.

Très évidente, dans la préparation, se montre l'origine vasculaire des bactéridies. On voit bien comment celles-ci, sortant des capillaires du tissu conjonctif sous-nodulaire et du nodule lui-même, diffusent et s'éparpillent dans tout le follicule.

Dans la figure 9 le phénomène est rendu encore plus évident. Elle représente une veinule de la tunique musculaire-muqueuse de la paroi intestinale d'un cobaye mort de charbon.

L'on voit clairement la façon dont les bactéridies, issues hors des parois capillaires très distendues et par conséquent altérées, s'insinuent et s'alignent dans le tissu cellulaire périvasculaire, dans le soi-disant *périthélium* de Eberth, qui le regardait comme une gaine lymphatique. Les bactéridies, qui ont traversé la mince membrane capillaire constituée par des cellules endothéliales, s'arrêtent momentanément dans cet espace lymphatique périvasculaire, où elles se multiplient en formant ainsi un manchon qui entoure et accompagne le vaisseau sanguin dans son parcours.

De là les bactéridies se répandent à l'entour, formant, çà et là, des petits buissons et des nids germinatifs. La provenance vasculaire des bactéridies ne pourrait être plus évidente. On voit bien que les bactéridies ont tendance à se disposer le long des parois des capillaires. Là le courant sanguin, moins rapide, rend plus facile leur arrêt momentané et par conséquent leur issue au dehors, par diapédèse ou par irradiation des filaments, à travers les parois, distendues par l'accroissement de la pression endocapillaire.

Mais, outre ces lésions qui pourraient être tenues comme de moindre gravité, j'ai eu l'occasion d'observer, chez les cobayes morts de septicémie charbonneuse, spécialement aux dépens des formations lymphatiques intestinales, des lésions bien plus profondes et caractéristiques. A l'autopsie d'un cobaye, outre une entérite très marquée intéressant divers segments de l'intestin grêle, j'ai trouvé dans le cæcum, débordant au voisinage de la valvule iléo-cæcale, une plaque lymphatique énormément tuméfiée et infiltrée de sang. Elle était devenue grosse

comme un petit haricot et était de couleur noirâtre. Après fixation par la série des alcools, les fragments du nodule étaient devenus si durs qu'il était difficile de les couper au microtome.

L'examen de la préparation, colorée comme les précédentes, avec Gram puis picrocarmin, montre que le tissu adénoïde de la masse des nodules présente une infiltration hémorragique interstitielle et est distendu par le sang extravasé hors des capillaires des nodules eux-mêmes.

A la base, près de la tunique musculaire, on observe encore quelques centres germinatifs restés en état d'intégrité relative. Mais les autres nodules de l'organe lymphatique ont été disloqués et poussés vers la périphérie où ils se montrent déformés et dissociés sous la poussée de l'infiltration sanguine. Le sang a imprégné et distendu les mailles du tissu adénoïde. La partie centrale de la plaque lymphatique a perdu sa structure histologique, étant complètement infiltrée de sang. Toutefois dans le stroma, on observe encore, bien que peu colorés, les éléments lymphoïdes appartenant au réticulum propre de l'organe. A un fort grossissement, on distingue nettement beaucoup de corps colorables au Flemming et une quantité marquée de granulations de pigment sanguin, ainsi que de nombreux granules et petits blocs d'hématoïdine amorphe.

Les veinules de l'organe lymphatique apparaissent très dilatées, remplies de sang et très riches en leucocytes.

Des parois vasculaires énormément distendues partent en s'irradiant des bactériidies en grand nombre, qui se disséminent partout. Elles se montrent plus spécialement abondantes sur le bord libre de l'organe lymphatique qui est complètement sphacélé.

En effet, non seulement l'épithélium de revêtement y a complètement disparu, mais il présente une grande perte de substance et de profondes érosions causées par une véritable nécrose hémorragique.

Au point de vue anatomo-pathologique, elle ne diffère en rien de ces graves nécroses hémorragiques intestinales, sur lesquelles se sont basés jusqu'ici tous les auteurs, pour accréditer l'existence d'une hypothétique « mycose intestinale charbonneuse ».

Résumé.

Les expériences et les observations contenues et décrites dans ce mémoire permettent d'arriver aux conclusions suivantes au sujet de la nature et du processus pathogénique du charbon dit « interne » ou « spontané » :

1° Le charbon dit « interne » ou « spontané » est aujourd'hui regardé par tous les auteurs comme une mycose intestinale, due aux spores de la bactériidie, introduites avec les aliments, échappées à l'action du suc gastrique, et ensuite germées et multipliées dans le canal digestif.

D'après cette conception pathogénique, les graves lésions anatomo-pathologiques qui se rencontrent à l'autopsie aux dépens de l'intestin seraient causées par l'action directe et primaire des bactériidies, lesquelles produiraient, de cette façon, une espèce de « pustule maligne interne ».

2° Les nombreuses expériences faites jusqu'ici dans l'intention de reproduire, chez les animaux, le tableau du charbon intestinal, ne permettent aucune démonstration persuasive et acceptable de la thèse actuellement accréditée. Malgré cela, dans la littérature médicale contemporaine, on insiste toujours sur la possibilité du développement des bactériidies charbonneuses dans l'intérieur du canal digestif, et, contrairement à la classique doctrine pastorienne, on soutient la conception de l'entérogénèse du charbon dit « interne » ou « spontané ».

3° Ces expériences, faites pour la plupart sur des cobayes et des lapins adultes et nouveau-nés, et sur d'autres animaux de laboratoire, ont démontré que l'administration par voie buccale, même de grandes quantités de bactériidies asporulées, est parfaitement inoffensive. A peine arrivées dans le contenu gastrique, les bactériidies sont tuées et digérées. L'introduction directe même dans l'intestin — par voie anale ou à travers une fistule appendiculaire — de sang charbonneux chargé de bactériidies reste sans conséquences. Ceci est dû à l'action des sucs digestifs — aussi bien gastrique qu'intestinal — qui est meurtrière pour les bactériidies asporulées. Cette

action antibactérienne du suc gastrique et du suc intestinal est facilement démontrable, même *in vitro*.

4° Les cobayes et les lapins, même nouveau-nés, supportent impunément l'administration buccale de doses énormes de spores charbonneuses, doses évaluables à un million de fois celle capable de tuer un lapin adulte inoculé par voie sous-cutanée. Mais parfois les animaux ainsi traités meurent de charbon. Dans ces cas, l'autopsie montre très souvent que la cause de l'infection a été banale, c'est-à-dire qu'elle a dépendu d'une effraction de la muqueuse des premières voies digestives (œdème local). Dans d'autres cas cependant la septicémie bactérienne apparaît cryptogénétique, c'est-à-dire qu'on constate qu'elle a débuté et évolué sans production des œdèmes locaux, comme sans multiplication aucune des bactéries dans les voies digestives.

5° L'étude de la façon de se comporter des spores charbonneuses dans le tube digestif des animaux démontre non seulement qu'elles sont inattaquables par le suc gastrique, mais qu'elles sont en outre incapables de germer en présence du suc intestinal. Cette dernière propriété est démontrable même *in vitro*. De petites quantités de suc intestinal de lapin ou de cobaye, mêlées avec du bouillon ou simplement versées à la surface des tubes de gélose, tandis qu'elles permettent le développement de tous les germes intestinaux cultivables, empêchent la germination des spores charbonneuses.

6° Le suc intestinal des animaux (chiens, lapins et cobayes) manifeste son pouvoir antibactérien surtout quand il est frais. Le vieillissement, le chauffage et l'état pathologique des parois intestinales atténuent ce pouvoir. Mais même si celui-ci était totalement annulé, les bactéries du charbon ne pourraient également pas se développer dans le suc intestinal. En effet, lorsqu'il est affaibli, ou a perdu ses propriétés antimicrobiennes, le colibacille prend immédiatement le dessus et s'y multiplie à son aise. Or, en présence du colibacille et de ses produits de sécrétion, la bactérie charbonneuse est absolument incapable de proliférer aussi bien dans le suc intestinal que dans les milieux de culture habituels. On ne peut donc admettre la possibilité d'une « mycose charbonneuse intestinale » et l'interprétation des expériences et des observations

anatomiques et cliniques, publiées par tous les auteurs dans le but de démontrer l'existence de cette entité morbide, doit être tenue pour erronée et insoutenable.

7° Les spores charbonneuses, administrées par la bouche, peuvent être aspirées ou entraînées facilement, et dans une mesure variable, dans l'appareil respiratoire. Chez les lapins infectés par la bouche, les spores charbonneuses se retrouvent souvent peu d'heures après dans les poumons, et après vingt-quatre heures dans la rate et les autres viscères;

8° Au moyen de projections liquides, convenablement effectuées dans les voies nasales, on peut faire arriver dans les poumons des lapins, d'une façon sûre et sans péril d'effraction des muqueuses ou de la peau, des doses bien déterminées de spores charbonneuses. Si la dose de spores projetées dans les poumons est excessive (100.000 spores), l'action des phagocytes pulmonaires ne peut suffire aux exigences de la défense. Dans ce cas, les spores, échappées aux macrophages et aux microphages pulmonaires, germent, envahissent le sang et donnent lieu à la septicémie. Mais si la dose n'est pas excessive et reste par conséquent submortelle (pas au-dessus de 50.000 spores), les phagocytes s'emparent aussitôt de celles-ci et les transportent dans la circulation générale, où elles se retrouvent même après plusieurs jours cantonnées dans les différents organes. Ces expériences éclairent certains faits restés jusqu'ici inexplicables ; par exemple, pourquoi les doses massives de virus données par la bouche en une seule fois, comme aussi les doses minimales mais répétées, tuent les animaux, tandis que les doses modérées uniques restent généralement sans effet.

9° Les spores, insufflées à doses submortelles dans les poumons à travers les voies nasales et ensuite transportées et déposées par les phagocytes pulmonaires dans différents organes, ne donnent pas le charbon, ni ne provoquent le plus léger trouble chez les animaux.

Elles se comportent dans les différents tissus comme les spores tétaniques injectées sous la peau ou dans les veines, après avoir été privées, par des lavages répétés ou par le chauffage, de leur toxine adhérente. C'est-à-dire qu'elles restent en condition de vie latente et sont, par conséquent, incapables de

germer. Avec le temps, elles sont digérées *in situ* par les sécrétions cellulaires ou évacuées par l'intestin.

10° Mais avant de subir cette destinée finale, les spores cantonnées ou transportées dans les différents organes et tissus peuvent, à un moment donné, être libérées de leur prison cellulaire et mises en état de germer, de se développer et de déclencher l'infection générale ou charbon dit « interne ».

Pour atteindre un tel résultat, il suffit — un ou plusieurs jours après la projection d'une dose submortelle de spores dans les poumons — d'injecter dans la rate, le foie, les reins, les parois intestinales ou dans un point quelconque du tissu cellulaire sous-cutané des lapins et même dans la circulation sanguine, une substance capable de créer des foyers nécrobiotiques ou nécrotiques, ou même de troubler de quelque façon la concentration moléculaire des éléments cellulaires ou les rapports physico-chimiques de leurs colloïdes, en détruisant la symbiose provisoire somato-parasitaire. La méthode la plus sûre consiste en des injections déchainantes, pratiquées dans la rate vingt-quatre heures après la projection des spores dans les poumons. Les spores se retrouvent dans la rate au moyen des cultures, même cinq jours après leur projection dans les poumons.

11° Les substances capables, à doses déterminées, de tuer dans les tissus les phagocytes sporifères, sans amener de dommages pour l'organisme et pour les spores, ce sont : l'arsenic, la quinine, l'acide lactique, le nucléinate de soude, le glucose, la peptone, l'hyposulfite de soude, le sang, le lait, l'eau distillée et les cultures de colibacilles vivantes ou mortes.

Les injections intraveineuses elles-mêmes, de quantités déterminées d'eau distillée et jusqu'à l'introduction dans le courant circulatoire de solution physiologique, peuvent produire les mêmes effets, c'est-à-dire la libération des spores séquestrées par les phagocytes dans différents organes et tissus avec le déclenchement de la septicémie charbonneuse qui en résulte.

12° Il est facile de reproduire la « pneumonie charbonneuse », avec hépatisation typique des lobes pulmonaires en projetant dans l'appareil respiratoire des lapins porteurs de spores, à travers les voies nasales, quelques-unes des sub-

stances déjà nommées. De telles injections déchainantes peuvent être pratiquées de suite après l'introduction des spores ou même quelques jours après. Les spores charbonneuses projetées dans les poumons à doses submortelles peuvent en effet se retrouver dans ces organes, au moyen des cultures, même après treize jours.

13° Chez les lapins porteurs de spores charbonneuses, exposés à diverses reprises à la température de 37° C. dans une chambre-étuve, se produisent de l'hyperthermie et d'autres troubles généraux et viscéraux. Comme conséquence, la résistance cellulaire diminue dans leur organisme, la cytolysé est favorisée et celle-ci rend libres les spores phagocytées. A peine en liberté, les spores germent à leur aise et produisent l'infection générale.

14° On provoque des effets analogues chez les lapins porteurs de spores, en les soumettant à une alimentation pauvre en eau. Tandis que les lapins témoins, soumis à un régime sec, composé de pain sec et de son, sans herbages, survivent généralement au delà d'un mois ou d'un mois et demi, les lapins porteurs de spores par insufflation nasale, soumis au même régime, meurent dans la première semaine, le plus souvent après cinq jours.

15° Les lésions de l'appareil digestif qui, dans le charbon, se retrouvent à l'autopsie, ne sont pas de nature entérogène, mais hématogène. Elles se montrent d'autant plus graves, que les sujets sont moins sensibles, et d'autant plus que, chez ceux-ci, la marche de la maladie se prolonge. Parmi les animaux de laboratoire, morts de septicémie charbonneuse, les réactions intestinales les plus violentes et les plus profondes se retrouvent chez les carnassiers (jeunes chiens); suivent les omnivores (rats albinos), et enfin les herbivores (cobayes et lapins), chez lesquels la réaction intestinale se résume, tout au plus, dans une hyperémie plus ou moins prononcée.

16° Mais les cobayes morts de charbon, même après inoculation sous-cutanée, présentent parfois à l'autopsie des altérations extrêmement graves de l'appareil digestif par où s'effectue, en même temps, une abondante élimination de bactériidies. De telles lésions, que l'on relève notamment aux dépens des formations lymphatiques intestinales (follicules et plaques de Peyer) très tuméfiées, aboutissent parfois à de véritables nécroses

hémorragiques. Celles-ci sont parfois accompagnées d'ulcérations et de destructions si profondes qu'on ne peut, en aucune façon, les différencier de celles qui ont été décrites comme caractéristiques du charbon dit « interne ou « spontané », soit chez l'homme, soit chez les animaux.

EXPLICATION DES PLANCHES

(Toutes les préparations reproduites ici ont été colorées par la méthode de Gram, suivie d'une coloration au carmin picriqué et sont décrites dans les chapitres VI et VII de ce mémoire.)

PLANCHE I.

FIG. 1. — Entérite hémorragique avec érosions et sphacèle étendu de la muqueuse, chez un lapin porteur de spores charbonneuses, mort de charbon après avoir été exposé, à diverses reprises, en chambre-étuve à 37° C. (Obj. 4 — oc. 6 compens.)

FIG. 2. — Entérite hémorragique avec destruction presque totale des villosités intestinales, chez un jeune chien, mort de charbon après inoculation sous-cutanée de virus. (Obj. 4 — oc. 6 compens.)

FIG. 3. — Muqueuse gastrique de lapin adulte mort de septicémie charbonneuse, deux jours après l'inoculation sous-cutanée de virus. Distribution des bactériidies autour du réseau capillaire des glandes à pepsine et dans les bourgeons marginaux du bord libre de la muqueuse. (Obj. 5 — oc. 6 compens.)

PLANCHE II.

FIG. 4. — Muqueuse gastrique d'un jeune lapin à la mamelle, mort de septicémie charbonneuse deux jours après l'inoculation sous-cutanée de virus. Présente une profonde corrosion de la muqueuse qui apparaît très infiltrée de bactériidies. (Obj. 5 — oc. 6 compens.)

FIG. 5. — Villosités intestinales de cobaye mort de charbon, trente-six heures après inoculation sous-cutanée de virus. Début du processus nécrotique dans la villosité centrale. (Obj. 5 — oc. 6 compens.)

FIG. 6. — Plaque de Peyer d'un cobaye mort de charbon deux jours après inoculation sous-cutanée de virus. Reproduction à faible grossissement (20 diam.). On y relève : la provenance vasculaire des bactériidies et leur concentration massive, surtout au niveau du bord libre des nodules lymphatiques.

FIG. 7. — Partie centrale de la même plaque de Peyer, vue à un fort grossissement. La tête du nodule montre sur son bord libre un feutrage dense de bactériidies. (Obj. 4 — oc. 6 compens.)

PLANCHE III.

FIG. 8. — Tête de nodule d'une plaque de Peyer, appartenant à un autre cobaye, mort de charbon deux jours après inoculation sous-cutanée de virus. Le sommet du follicule apparaît profondément nécrosé, ulcéré et infiltré de bactériidies, dont la provenance vasculaire est évidente. (Obj. 4 — oc. 6 compens.)

FIG. 9. — Veinule de la tunique musculaire de la paroi intestinale d'un cobaye mort de charbon. Les bactériidies sorties des parois capillaires dilatées se sont insinuées et multipliées dans la gaine périvasculaire lymphatique. De là, elles se sont éparpillées à l'entour, formant des buissons et des centres germinatifs. (Obj. 4 — oc. 6 compens.)

FIG. 10. — Entérite folliculaire avec nécrose hémorragique d'une plaque lymphatique du cæcum, chez un cobaye mort de charbon inoculé par voie sous-cutanée. Le sang a infiltré et distendu les mailles du tissu lymphoïde, le rendant méconnaissable et y laissant une grande quantité de grains d'hématoïdine amorphe. Le bord libre présente de profondes érosions nécrotiques. (Obj. 4 — oc. 6 compens.)

Le Gérant : G. MASSON.

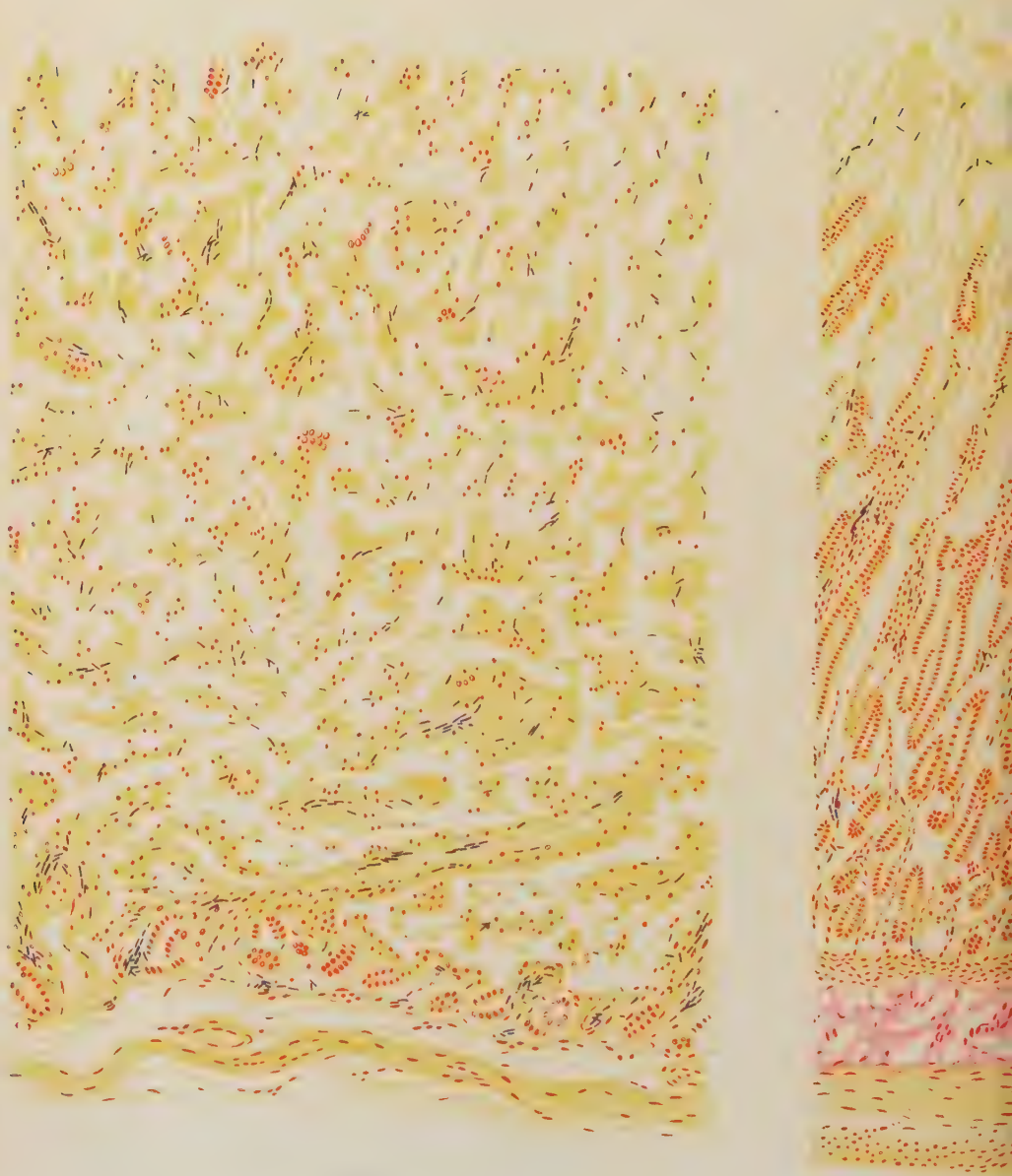


Fig. 1

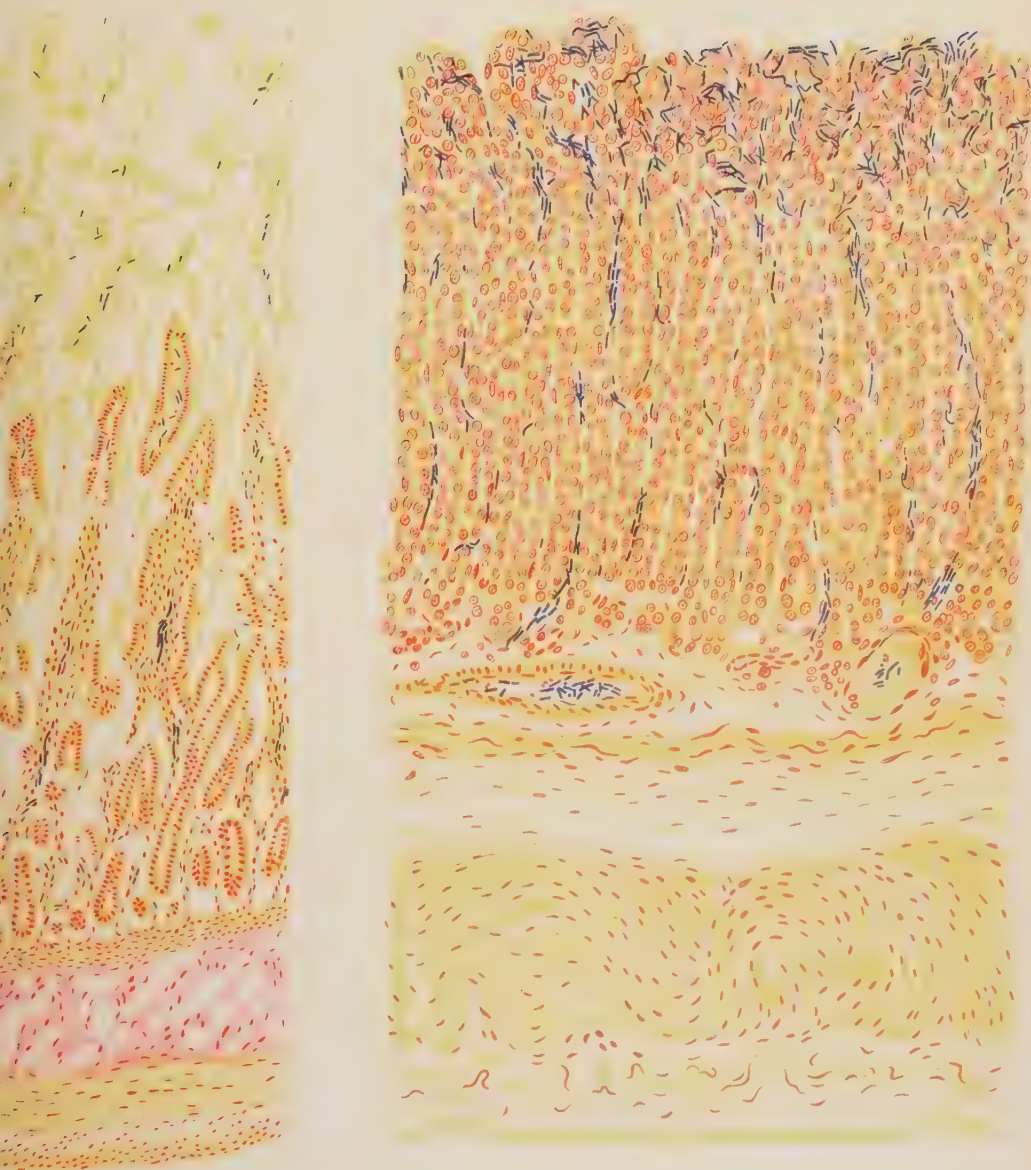


Fig. 3

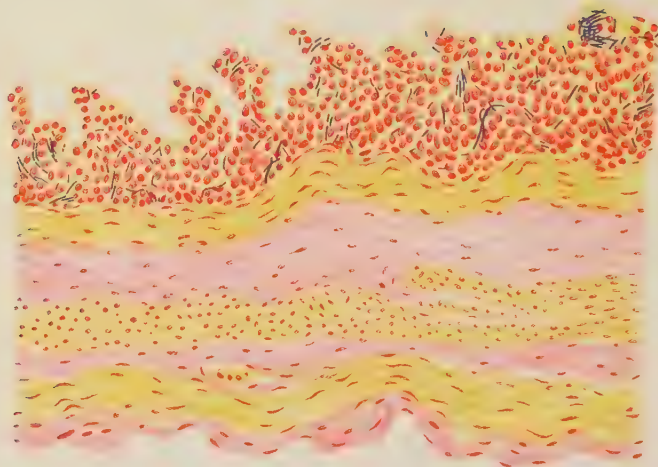


Fig. 4

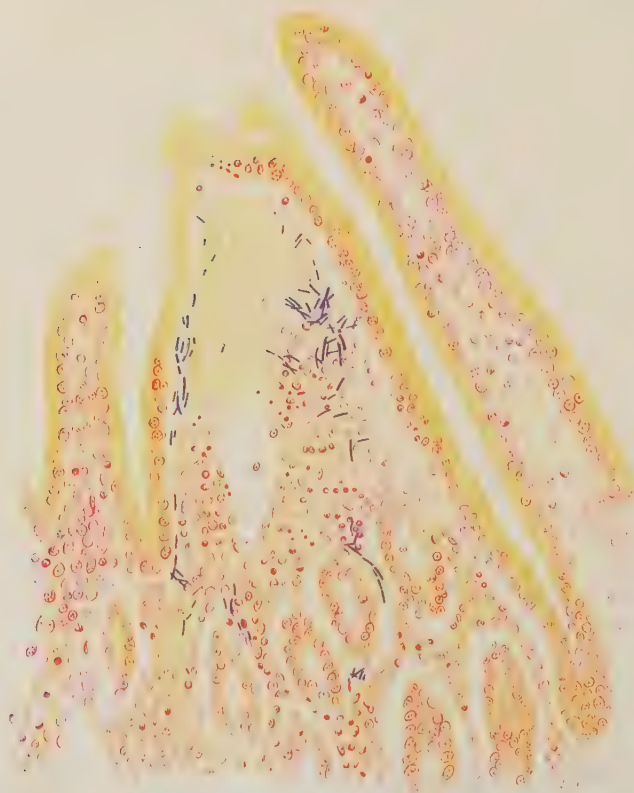


Fig. 5

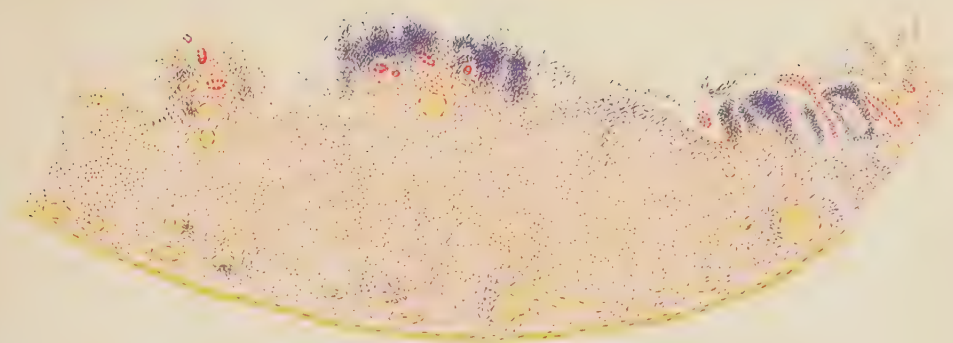


Fig. 6

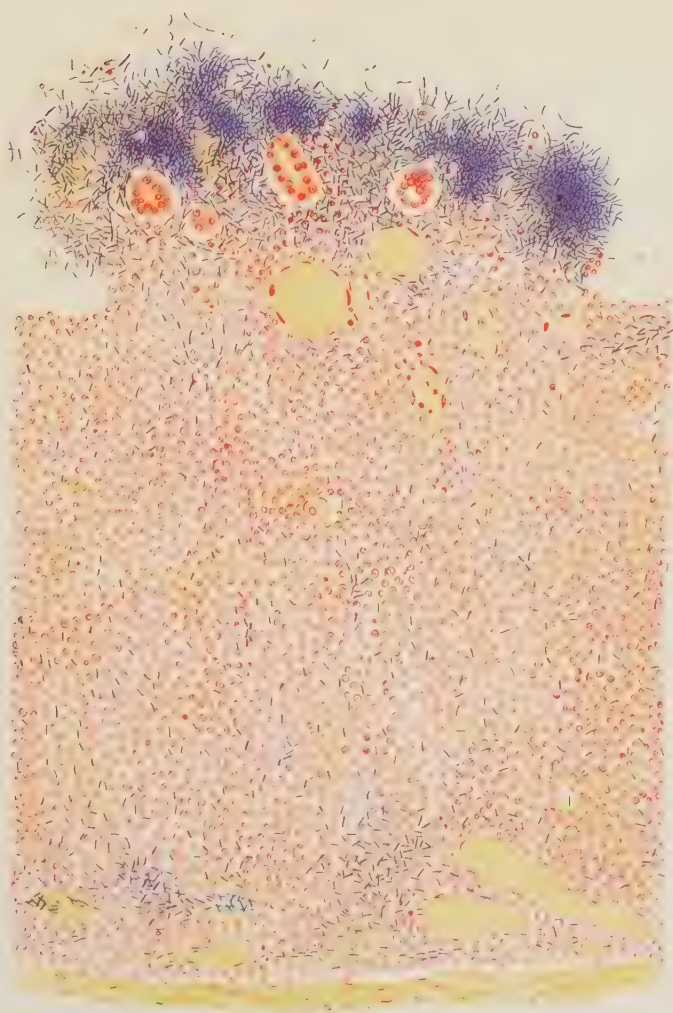


Fig. 7



Fig. 8

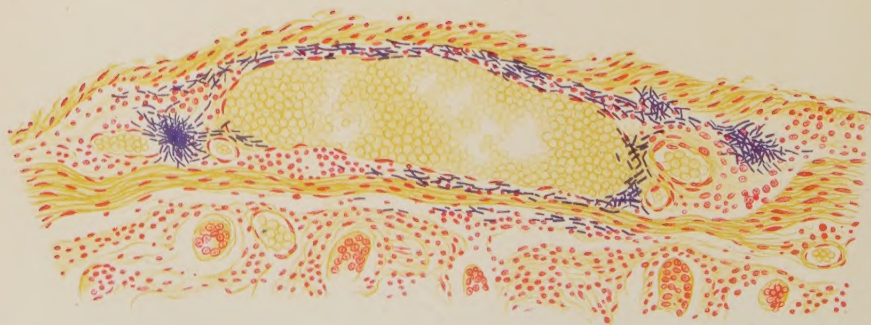


Fig. 9

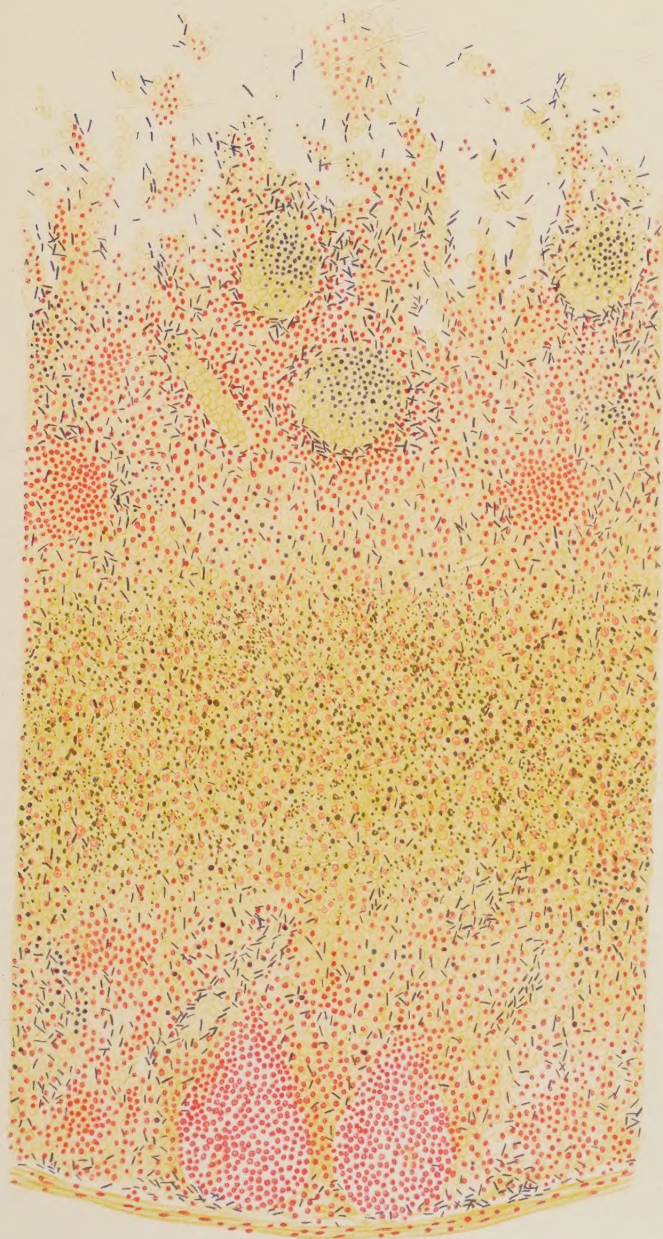


Fig. 10

